

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
18. August 2005 (18.08.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2005/075957 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **G01N 15/14**,
15/12 // B01L 3/00, G01N 27/44

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2005/001084

(22) Internationales Anmeldedatum:
3. Februar 2005 (03.02.2005)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
PCT/EP2004/001031

4. Februar 2004 (04.02.2004) EP

PCT/EP2004/001034

4. Februar 2004 (04.02.2004) EP

10 2004 017 482.2 8. April 2004 (08.04.2004) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): **EVOTEC TECHNOLOGIES GMBH** [DE/DE];
Merowingerplatz 1a, 40225 Düsseldorf (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **SCHNELLE, Thomas**
[DE/DE]; Koppenstrasse 65, 10243 Berlin (DE). **PFEN-
NIG, Annette** [DE/DE]; Driesener Strasse 29, 10439
Berlin (DE). **MÜLLER, Torsten** [DE/DE]; Hartriegel-
strasse 39, 10439 Berlin (DE).

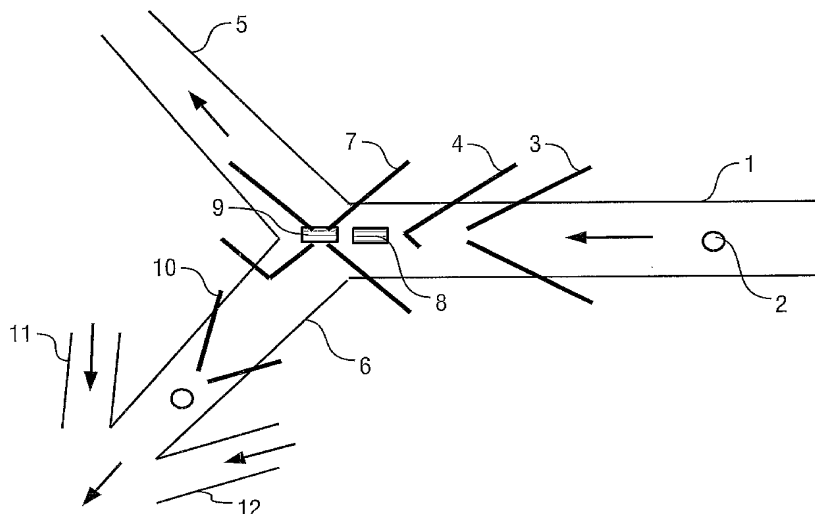
(74) Anwalt: **BEIER, Ralph**; v.Bezaud & Sozien, Akademies-
trasse 7, 80799 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: MICROFLUIDIC SYSTEM COMPRISING AN ELECTRODE ARRANGEMENT AND ASSOCIATED CONTROL METHOD

(54) Bezeichnung: MIKROFLUIDISCHES SYSTEM MIT EINER ELEKTRODENANORDNUNG UND ZUGEHÖRIGES AN-
STEUERUNGSVERFAHREN



(57) Abstract: The invention relates to a microfluidic system, in particular in a cell sorter, comprising a carrier flow channel (1) which is used to supply a carrier flow having particles (2) suspended therein, a first manipulation device which is arranged in the carrier flow channel (1) and which is used to manipulate the second manipulation device which is arranged in the carrier flow channel (1) and which is used to manipulate the particles (2) suspended in the carrier flow. According to the invention, the first manipulation device and the second manipulation device comprise a common electrode arrangement (7).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2005/075957 A1



KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein mikrofluidisches System, insbesondere in einem Zellsortierer, mit einem Trägerstromkanal (1) zur Zuführung eines Trägerstroms mit darin suspendierten Partikeln (2), einer in dem Trägerstromkanal (1) angeordneten ersten Manipulationseinrichtung zur Manipulation der in dem Trägerstromkanal (1) angeordneten zweiten Manipulationseinrichtung zur Manipulation der in dem Trägerstrom suspendierten Partikel (2). Es wird vorgeschlagen, dass die erste Manipulationseinrichtung und die zweite Manipulationseinrichtung eine gemeinsame Elektrodenanordnung (7) aufweisen.

BESCHREIBUNG

5 Mikrofluidisches System mit einer Elektrodenanordnung und
 zugehöriges Ansteuerungsverfahren

Die Erfindung betrifft ein mikrofluidisches System, insbesondere in einem Partikelsortierer, gemäß dem Oberbegriff des
10 Anspruchs 1 sowie ein Ansteuerungsverfahren für eine Elektrodenanordnung in einem derartigen mikrofluidischen System gemäß dem Oberbegriff des Anspruchs 20.

Aus MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles", Biosensors &
15 Bioelectronics 14 (1999) 247-256 ist ein mikrofluidisches System zur Untersuchung biologischer Zellen bekannt, bei dem die zu untersuchenden Zellen in einem Trägerstrom suspendiert sind und dielektrophoretisch manipuliert und sortiert werden.
20 In dem Trägerstrom werden die zu untersuchenden Zellen zunächst durch eine trichterförmige dielektrophoretische Elektrodenanordnung (engl. "funnel") aufgereiht und anschließend in einem dielektrophoretischen Käfig (engl. "cage") festgehalten, um die in dem Käfig befindlichen Zellen im ruhenden
25 Zustand untersuchen zu können, wozu mikroskopische, spektroskopische oder fluoreszenzoptische Messmethoden angewendet werden können. In Abhängigkeit von der Untersuchung der in dem dielektrophoretischen Käfig gefangenen Zellen können diese anschließend sortiert werden, wozu der Bediener eine Sortiereinrichtung (engl. "switch") ansteuert, die aus einer in
30 dem Trägerstrom stromabwärts hinter dem dielektrophoretischen Käfig angeordneten dielektrophoretischen Elektrodenanordnung besteht. In diesem bekannten mikrofluidischen System sind in dem Trägerstromkanal also hintereinander mehrere Manipulati-

onseinrichtungen angeordnet, welche die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel manipulieren.

5 Nachteilig an dem bekannten mikrofluidischen System ist deshalb die Tatsache, dass in dem Trägerstromkanal eine Vielzahl von Elektroden angeordnet werden muss, um die verschiedenen Manipulationseinrichtungen (z.B. "funnel", "cage" und "switch") zu bilden.

10 Der Erfindung liegt deshalb die Aufgabe zugrunde, das vorstehend beschriebene bekannte mikrofluidische System zu vereinfachen.

15 Diese Aufgabe wird durch die Merkmale der nebengeordneten Ansprüche gelöst.

20 Die Erfindung umfasst die allgemeine technische Lehre, die Funktionen verschiedener Manipulationseinrichtungen in einer einzigen Elektrodenanordnung zu integrieren, so dass nicht jede Manipulationseinrichtung in dem Trägerstromkanal eine separate Elektrodenanordnung benötigt. Die gemeinsame Elektrodenanordnung erfüllt hierbei also in Abhängigkeit von ihrer Ansteuerung verschiedene Manipulationsfunktionen (z.B. fangen und sortieren von Partikeln)

25 In dem Trägerstromkanal des erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems sind also vorzugsweise mindestens zwei Manipulationseinrichtungen (z.B. ein "cage" und ein "switch") angeordnet, wobei diese beiden Manipulationseinrichtungen eine
30 gemeinsame Elektrodenanordnung aufweisen. Die gemeinsame Elektrodenanordnung der beiden Manipulationseinrichtungen kann zur Durchführung verschiedener Manipulationsfunktionen angesteuert werden. Beispielsweise kann die gemeinsame Elektrodenanordnung so angesteuert werden, dass die in den Träger-

strom suspendierten Partikel in der als Feldkäfig geschalteten Elektrodenanordnung fixiert werden. Es ist jedoch alternativ auch möglich, dass die gemeinsame Elektrodenanordnung so angesteuert wird, dass die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel in eine von mehreren Ausgangsleitungen sortiert werden.

In dem bevorzugten Ausführungsbeispiel sind in die gemeinsame Elektrodenanordnung also die Funktionen von zwei Manipulationseinrichtungen integriert, nämlich die Funktion eines Feldkäfigs und die Funktion einer Sortiereinrichtung bzw. einer Partikelweiche (engl. "switch"). Die Erfindung ist jedoch hinsichtlich der Anzahl der in die gemeinsame Elektrodenanordnung zu integrierenden Manipulationsfunktionen nicht auf diese beiden Funktionen beschränkt. Es ist vielmehr auch möglich, andere Manipulationsfunktionen oder eine größere Anzahl von unterschiedlichen Manipulationsfunktionen in die gemeinsame Elektrodenanordnung zu integrieren. Insbesondere besteht im Rahmen der Erfindung die Möglichkeit, drei verschiedene Manipulationseinrichtungen in eine gemeinsame Elektrodenanordnung zu integrieren, wobei es sich bei den drei Manipulationseinrichtungen beispielsweise um einen Feldkäfig (engl. "cage"), eine Partikelweiche (engl. "switch") und eine Zentriereinrichtung (engl. "funnel") handeln kann. Der Aufbau und die Funktionsweise dieser Manipulationseinrichtungen ist in der bereits eingangs erwähnten Veröffentlichung von MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles" beschrieben, deren Inhalt der vorliegenden Beschreibung in vollem Umfang zuzurechnen ist.

Im Übrigen ist der im Rahmen der Erfindung verwendete Begriff einer Manipulationseinrichtung allgemein zu verstehen und

nicht auf die vorstehend erwähnten Typen von Manipulations-
einrichtungen beschränkt.

Beispielsweise kann es sich bei der Manipulationseinrichtung
5 um eine dielektrische oder dielektrophoretischen Manipulati-
onseinrichtung handeln.

Darüber hinaus könnte die Manipulationseinrichtung die Parti-
kel (z.B. biologische Zellen) in herkömmlicher Weise dielek-
10 trisch deformieren, so dass die Manipulationseinrichtung als
Deformationseinrichtung zu bezeichnen wäre.

Weiterhin besteht im Rahmen der Erfindung die Möglichkeit,
dass die Manipulationseinrichtung die Partikel (z.B. biologi-
15 sche Zellen) poriert, was an sich ebenfalls bekannt ist.
Hierbei wird die Zellhülle mittels eines Hochspannungsimpulses
aufgerissen und damit durchlässig gemacht. Die Manipulations-
einrichtung kann in diesem Fall auch als Elektroporationsein-
richtung bezeichnet wird.

20

Bei der Manipulationseinrichtung im erfindungsgemäßen Sinne
kann es sich jedoch auch um eine Einrichtung zur Zellfusio-
nierung handeln.

25 Ferner besteht im Rahmen der Erfindung die Möglichkeit, dass
die Manipulationseinrichtung die Partikel thermisch behandelt
oder sowohl dielektrophoretisch als auch elektrophoretisch
arbeitet.

30 Der im Rahmen der Erfindung verwendete Begriff einer gemein-
samen Elektrodenanordnung ist vorzugsweise dahingehend zu
verstehen, dass die gemeinsame Elektrodenanordnung mindestens
eine Elektrode aufweist, die Bestandteil mehrerer verschiede-
ner Manipulationseinrichtungen ist.

Weiterhin ist zu erwähnen, dass die Elektrodenanordnung des erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems mehrere Elektroden aufweisen kann, die sich hinsichtlich ihrer Form, Länge und Breite unterscheiden können.

Bei der Integration eines dielektrophoretischen Feldkäfigs und einer dielektrophoretischen Partikelweiche in einer gemeinsamen Elektrodenanordnung ist die gemeinsame Elektrodenanordnung vorzugsweise in einem Verzweigungsbereich des Trägerstromkanals angeordnet, in dem sich der Trägerstromkanal in mehrere Ausgangsleitungen verzweigt. Bei dieser Anordnung kann die gemeinsame Elektrodenanordnung wahlweise als Partikelweiche oder als Feldkäfig geschaltet werden, was bei einer anderen Anordnung weiter stromaufwärts in dem Trägerstromkanal schwieriger wäre. Der im Rahmen der Erfindung verwendete Begriff eines Verzweigungsbereichs des Trägerstromkanals ist allgemein zu verstehen und nicht auf den Schnittpunkt der Ausgangsleitungen beschränkt, sondern umfasst beispielsweise auch die sogenannte "Separatrix", die dem geometrischen Schnittpunkt der Ausgangsleitung stromaufwärts vorgelagert ist.

In einem bevorzugten Ausführungsbeispiel der Erfindung verläuft in dem Trägerstromkanal eine Trennlinie, wobei die auf der einen Seite der Trennlinie befindlichen Partikel ohne eine Ansteuerung der Partikelweiche in die eine Ausgangsleitung strömen, während die auf der anderen Seite der Trennlinie befindlichen Partikel ohne eine Ansteuerung der Partikelweiche in die andere Ausgangsleitung strömen. Die auf die verschiedenen Ausgangsleitungen zu sortierenden Partikel müssen hierbei also lediglich auf eine Seite der Trennlinie gebracht werden und strömen dann selbständig in die vorgesehene Ausgangsleitung. Dies bietet den Vorteil, dass die Partikelwei-

che stromaufwärts vor dem Verzweigungsbereich der Ausgangsleitungen und insbesondere stromaufwärts vor dem geometrischen Schnittpunkt der Ausgangsleitungen angeordnet sein kann.

5

Bei der vorstehend erwähnten Trennlinie kann es sich um eine reale Trennwand handeln, die zwei Teilströme voneinander trennt, wobei die beiden Teilströme in jeweils eine bestimmte Ausgangsleitung strömen. Es ist jedoch alternativ auch möglich, dass die Trennlinie lediglich eine gedachte Linie bzw. Fläche zwischen den beiden Teilströmen ist.

In einer Variante der Erfindung ist die Partikelweiche hierbei im Wesentlichen auf der Trennlinie angeordnet. Die Partikelweiche muss hierbei also stets aktiv angesteuert werden, um den jeweiligen Partikel mit einer ausreichenden Sicherheit in die vorgesehene Ausgangsleitung zu befördern.

In einer anderen Variante der Erfindung ist die Partikelweiche dagegen bezüglich der Strömungsrichtung in dem Trägerstromkanal seitlich neben der Trennlinie angeordnet, wobei die Partikel der Partikelweiche vorzugsweise durch eine stromaufwärts gelegene Zentriereinrichtung (engl. "funnel") zugeführt werden. Dies bietet den Vorteil, dass die Partikelweiche nur dann aktiv angesteuert werden muss, wenn ein Partikel über die Trennlinie hinaus abgelenkt werden soll, um in die entsprechende Ausgangsleitung auf der gegenüberliegenden Seite der Trennlinie zu gelangen. Falls ein Partikel dagegen in die Ausgangsleitung auf der Seite der Partikelweiche strömen soll, ist hierbei keine aktive Ansteuerung der Partikelweiche erforderlich. Hierbei kann die Partikelweiche auf der Seite der Trennlinie angeordnet sein, aus der die Ausgangsleitung für negativ selektierte Partikel (engl. "waste") abzweigt. Es ist jedoch alternativ auch möglich, dass die Par-

tikelweiche auf der Seite der Trennlinie angeordnet ist, aus der die Ausgangsleitung für positiv selektierte Partikel abzweigt.

5 In einem anderen Ausführungsbeispiel der Erfindung verzweigt der Trägerstromkanal ausgangsseitig nicht notwendigerweise in mehrere Ausgangsleitungen. Stattdessen verläuft hierbei neben dem Trägerstromkanal mindestens ein Nebenstromkanal, der von dem Trägerstromkanal vorzugsweise durch eine Trennwand ge-
10 trennt ist, wobei sich in der Trennwand ein Durchbruch befindet, in dem die Partikelweiche angeordnet ist. In diesem Ausführungsbeispiel werden also nur die einzelnen Partikel sortiert, wohingegen die Trägerströme im Wesentlichen unbeeinflusst weiter fließen. Beispielsweise können seitlich neben
15 dem Trägerstromkanal, der den Trägerstrom mit den darin suspendierten Partikeln führt, zwei Nebenstromkanäle verlaufen, so dass die Partikelweiche die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel wahlweise in einen der benachbarten Nebenstromkanäle befördern kann.

20

Es ist jedoch bei diesem Ausführungsbeispiel nicht zwingend erforderlich, dass zwischen dem Trägerstromkanal und dem Nebenstromkanal eine physische Trennwand verläuft. Es ist vielmehr auch möglich, dass der Trägerstromkanal lediglich durch
25 eine gedachte Trennlinie bzw. Trennfläche von dem Nebenstromkanal getrennt ist, wobei die Trennung von Trägerstrom und Nebenstrom lediglich strömungsbedingt ist, weil Trägerstrom und Nebenstrom laminar nebeneinander strömen

30 In einem Ausführungsbeispiel der Erfindung weist die gemeinsame Elektrodenanordnung mindestens eine pfeilförmige Elektrode und mehrere Ablenkelektroden auf, wobei die pfeilförmige Elektrode entgegen der Strömungsrichtung des Trägerstroms ausgerichtet ist, während die Ablenkelektroden stromaufwärts

vor der pfeilförmigen Elektrode angeordnet sind und an die pfeilförmige Elektrode angrenzen. Beim Betrieb als dielektrophoretische Partikelweiche wird die Pfeilelektrode hierbei permanent aktiviert, während das Umlenken in die verschiedenen Ausgangsleitungen durch Schalten der verschiedenen Ablenkelektroden erfolgt. Diese Anordnung einer dielektrophoretischen Partikelweiche wird auch als "Ultra Fast Sorter" (UFS) bezeichnet und ermöglicht eine schnelle Sortierung der suspendierten Partikel. Darüber hinaus lässt sich auch diese Elektrodenanordnung als Feldkäfig schalten, um die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel zu fixieren.

In den bevorzugten Ausführungsbeispielen weist die gemeinsame Elektrodenanordnung sechs oder acht Elektroden auf, die getrennt ansteuerbar sind, um die gewünschte Manipulationsfunktion (z.B. Partikelfixierung oder Partikelsortierung) auszuführen. Die Erfindung ist jedoch hinsichtlich der Anzahl der Elektroden der gemeinsamen Elektrodenanordnung nicht auf sechs oder acht Elektroden beschränkt, sondern grundsätzlich auch mit anderen Konfigurationen realisierbar.

In einem Ausführungsbeispiel der Erfindung besteht der Feldkäfig aus acht Elektroden, während die Zentriereinheit (engl. "funnel") vier Elektroden aufweist, wobei die vier stromaufwärts gelegenen Elektroden des Feldkäfigs elektrisch mit jeweils einer der Elektroden der Zentriereinheit verbunden sind. Hierbei sind also ein Feldkäfig und eine Zentriereinheit in eine gemeinsame Elektrodenanordnung integriert, wobei die Elektroden der Zentriereinrichtung gemeinsam mit den vier stromaufwärts gelegenen Elektroden des Feldkäfigs ansteuerbar sind.

Weiterhin ist zu erwähnen, dass das erfindungsgemäße mikrofluidische System vorzugsweise eine erste Messstation auf-

weist, welche die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel stromaufwärts vor der gemeinsamen Elektrodenanordnung im strömenden Zustand untersucht.

5 Diese Untersuchung kann beispielsweise die Intensität einer Fluoreszenz, die Vitalität einer Zelle und/oder die Frage betreffen, ob es sich um eine einzelne Zelle oder ein Aggre-
10 gat von mehreren Zellen handelt. Weiterhin kann bei dieser Untersuchung ermittelt werden, ob es sich um Zellen oder Ma-
terial handelt, das in Form und Größe nicht Primärziel der
näheren Untersuchung ist, zum Beispiel Verunreinigungen oder
andere Zellen, sofern sie sich von den Vielzellen unterschei-
den. Neben geometrischen Parametern können auch stoffliche
Parameter ermittelt werden. Dabei kann es sich bspw. um fluo-
15 reszenztechnisch messbare chemische Konzentrationen aber auch
um physikalische Parameter wie Viskosität und Elastizität
handeln, die über eine Evaluierung der im elektrischen Feld
auftretenden Deformationen bzw. Relaxationen bestimmt werden
kann. Im Rahmen dieser Untersuchung kann beispielsweise eine
20 Durchlichtmessung, eine Fluoreszenzmessung und/oder eine Im-
pedanzspektroskopie erfolgen. Darüber hinaus ist es möglich,
dass zunächst eine Durchlichtmessung und anschließend eine
Fluoreszenzmessung erfolgt, wobei die Durchlichtmessung und
die Fluoreszenzmessung vorzugsweise in räumlich getrennten
25 Untersuchungsfenstern (engl. "region of interest") erfolgen.
Die Durchlichtmessung kann beispielsweise die Unterscheidung
zwischen lebenden und toten biologischen Zellen ermöglichen,
während die Fluoreszenzmessung dazu verwendet werden kann, um
zu untersuchen, ob die in dem Trägerstrom suspendierten Par-
30 tikel einen Fluoreszenzmarker tragen.

Falls im Rahmen der Voruntersuchung sowohl eine Durchlicht-
messung als auch eine Fluoreszenzmessung in räumlich getrenn-
ten Untersuchungsfenstern erfolgt, so ist es vorteilhaft,

wenn das Untersuchungsfenster für die Durchlichtmessung in dem Trägerstrom stromaufwärts vor dem Untersuchungsfenster für die Fluoreszenzmessung liegt. Es ist jedoch alternativ auch möglich, dass das Untersuchungsfenster für die Durchlichtmessung in dem Trägerstrom stromabwärts hinter dem Untersuchungsfenster für die Fluoreszenzmessung angeordnet ist.

Vorzugsweise wird im Rahmen der Untersuchung in der ersten Messstation ein optisches Bild aufgenommen, was eine digitale Bildauswertung zur Klassifizierung der Partikel ermöglicht. Vorzugsweise werden die Partikel hierbei morphologisch untersucht, um beispielsweise eine einzelne biologische Zelle von einem Zellklumpen unterscheiden zu können. Der im Rahmen der vorliegenden Beschreibung verwendete Begriff eines optischen Bildes ist jedoch allgemein zu verstehen und nicht auf zweidimensionale Bilder im herkömmlichen Wortsinne beschränkt. Vielmehr umfasst der Begriff eines optischen Bildes im Sinne der Erfindung auch eine punkt- oder linienförmige optische Abtastung des Trägerstroms bzw. der in dem Trägerstrom suspendierten Partikel. Beispielsweise kann die Helligkeit entlang einer Linie quer zum Trägerstromkanal aufintegriert werden, um einzelne Partikel zu detektieren und zu klassifizieren.

Die Unterscheidung lebender und toter Zellen im Rahmen der Untersuchung in der ersten Messstation kann bei einer Durchlichtmessung durch eine Auswertung der Intensitätsverteilung in dem aufgenommenen optischen Bild erfolgen. Ein spezielles Prinzip dieser Durchlichtmessung mit den erwähnten Eigenschaften ist beispielsweise die Phasenkontrast-Beleuchtung. So weisen lebende biologische Zellen eine Ringstruktur mit einem in der Durchlichtmessung relativ hellen Rand und einem dunkleren Mittelpunkt auf, wohingegen tote biologische Zellen bei einer Durchlichtmessung eine annähernd einheitliche Hel-

lichkeit aufweisen und dunkel gegen den Hintergrund erscheinen.

Zusätzlich zu der Untersuchung der Partikel in der ersten
5 Messstation erfolgt vorzugsweise eine weitere Messung in einer zweiten Messstation, welche die in dem Feldkäfig fixierten Partikel untersucht. Die Fixierung der Partikel während der Untersuchung ist vorteilhaft, da auf diese Weise eine wesentlich genauere Untersuchung möglich ist.

10

Bei der Untersuchung in der zweiten Messstation können beispielsweise bestimmte Moleküle innerhalb einer Zelle lokalisiert werden. Beispielsweise können im Rahmen dieser Untersuchung Moleküle lokalisiert werden, die mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert sind.
15

Bei dem Fluoreszenzfarbstoff kann es sich beispielsweise um molekularbiologisch produzierte "Tags" von "Green Fluorescent Protein" und dessen Derivate, andere autofluoreszente Proteine handeln. Als Fluoreszenzfarbstoffe eignen sich jedoch auch
20 solche Fluoreszenzfarbstoffe, die an ein zelluläres Molekül kovalent oder nicht-kovalent binden. Darüber hinaus können als Fluoreszenzfarbstoffe auch fluorogene Substanzen eingesetzt werden, die von zellulären Enzymen in fluoreszierende
25 Produkte umgesetzt werden oder sogenannte FRET-Paare (Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer). Der Zustand der eingesetzten Fluoreszenzfarbstoffe kann beispielsweise anhand ihrer spektralen Eigenschaften oder durch Biolumineszenz unterschieden werden.

30

Anhand der Lokalisation von Molekülen innerhalb einer Zelle kann auch die Struktur und die Funktion der Moleküle ermittelt werden. Hierbei kann beispielsweise unterschieden werden nach dem Vorkommen in der Plasmamembran, im Zytosol, in den

Mitochondrien, im Golgi-Apparat, in Endosomen, in Lysosomen, im Zellkern, im Spindelapparat, im Zyto-Skelett, Kolokalisation mit Aktin, Tubulin.

5 Ferner kann im Rahmen der Haupt- und/oder Voruntersuchung in der ersten bzw. zweiten Messstation die Morphologie einer Zelle bestimmt werden, wobei auch Farbstoffe eingesetzt werden können. Darüber hinaus können im Rahmen der Haupt- und/oder Voruntersuchung auch zwei oder mehr Zustände einer
10 Zellpopulation unterschieden werden.

Weiterhin ist es im Rahmen der Hauptuntersuchung in der zweiten Messstation möglich, ein zelluläres Signal anhand der Translokation eines fluoreszenzmarkierten Moleküls zu bestimmen, z.B. Rezeptoraktivierung gefolgt von Rezeptor-
15 Internalisierung, Rezeptor-Aktivierung gefolgt von der Bindung von Arrestin, Rezeptor-Aggregation, Übergang eines Moleküls von der Plasmamembran ins Zytosol, vom Zytosol in die Plasmamembran, vom Zytosol in den Zellkern oder vom Zellkern
20 ins Zytosol.

Ferner kann im Rahmen der Haupt- und/oder Voruntersuchung auch die Wechselwirkung zweier Moleküle bestimmt werden, wobei vorzugsweise mindestens eines der wechselwirkenden Moleküle einen Fluoreszenzmarker trägt und die Wechselwirkung
25 z.B. durch kolokalisationsfreier Fluoreszenzfarben, ein FRET oder eine Änderung der Fluoreszenz-Lebenszeit gezeigt wird.

Im Rahmen der Haupt- und/oder Voruntersuchung kann jedoch
30 auch der Status einer Zelle innerhalb eines Zellzyklus bestimmt werden, wobei vorzugsweise die Morphologie der Zelle oder die Anfärbung des zellulären Chromatins ausgewertet wird.

Eine weitere Möglichkeit für die Haupt- und/oder Voruntersuchung besteht darin, das Membranpotential einer Zelle zu bestimmen, wobei vorzugsweise membranpotential-sensitive Farbstoffe eingesetzt werden. Vorzugsweise werden hierbei Farbstoffe verwendet, die hinsichtlich des Plasmamembranpotentials und/oder des mitochondrialen Membranpotentials sensitiv sind.

Darüber hinaus kann im Rahmen der Haupt- und/oder Voruntersuchung auch die Vitalität einer Zelle ermittelt werden, wobei vorzugsweise die Morphologie der Zelle ausgewertet wird und/oder fluorogene Substanzen eingesetzt werden, die zwischen lebenden und toten Zellen unterscheiden können.

Ferner können bei der Haupt- und/oder Voruntersuchung auch zytotoxische Effekte untersucht und/oder der intrazelluläre pH-Wert bestimmt werden.

Es ist auch möglich, im Rahmen der Haupt- und/oder Voruntersuchung die Konzentration eines oder mehrerer Ionen innerhalb einer Zelle zu bestimmen.

Auch kann bei der Haupt- und/oder Voruntersuchung eine enzymatische Aktivität innerhalb einer Zelle ermittelt werden, wobei vorzugsweise fluorogene oder chromogene Substanzen, insbesondere Kinasen, Phosphatasen oder Proteasen, eingesetzt werden können.

Ferner kann bei der Haupt- und/oder Voruntersuchung die Produktionsleistung von Zellen bestimmt werden, die biologische Produkte erzeugen, wie beispielsweise Proteine, Peptide, Antikörper, Kohlenhydrate oder Fette, wobei eine der beschriebenen Methoden angewendet werden kann.

Schließlich können im Rahmen der Hauptuntersuchung in der zweiten Messstation auch Zell-Stresspfade, metabolische Pfade, Zellwachstumspfade, Zellteilungspfade und andere Signaltransduktionspfade bestimmt werden.

5

Die Erfindung ist jedoch nicht auf das vorstehend beschriebene erfindungsgemäße mikrofluidische System als Einzelteil beschränkt, sondern umfasst auch ein Gerät, insbesondere einen Zellsortierer mit einem derartigen mikrofluidischen System als Bauteil.

10

Ferner umfasst die Erfindung auch ein Ansteuerungsverfahren zur elektrischen Ansteuerung der gemeinsamen Elektroden entsprechend der gewünschten Manipulationsfunktion.

15

Weiterhin ist zu erwähnen, dass der im Rahmen der Erfindung verwendete Begriff eines Partikels allgemein zu verstehen ist und nicht auf einzelne biologische Zellen beschränkt ist. Vielmehr umfasst dieser Begriff auch synthetische oder biologische Partikel wobei sich besondere Vorteile ergeben, wenn die Partikel biologische Materialien, also beispielsweise biologische Zellen, Zellgruppen, Zellbestandteile, Viren oder biologisch relevante Makromoleküle, jeweils ggf. im Verbund mit anderen biologischen Partikeln oder synthetischen Trägerpartikeln umfassen. Synthetische Partikel können feste Partikel, flüssige, vom Suspensionsmedium abgegrenzte Teilchen oder Mehrphasenpartikel umfassen, die gegenüber dem Suspensionsmedium in dem Trägerstrom eine getrennte Phase bilden.

20

25

30

Ferner ist zu erwähnen, dass die Elektrodenanordnungen vorzugsweise dreidimensionale Anordnungen sind. Es ist zwar auch möglich, dass die Elektrodenanordnungen nur auf einer Kanal-seite prozessiert wurden. Besonders vorteilhaft ist es aber, die Elektrodenanordnungen an zwei gegenüber liegenden Kanal-

wänden parallel anzuordnen, wobei in den Zeichnungen in der Aufsicht nur eine Anordnung erkennbar ist. Beispielsweise kann ein "Funnel" aus zwei oder vier Elektroden bestehen.

- 5 Schließlich umfasst die Erfindung auch die neuartige Verwendung des erfindungsgemäße mikrofluidischen Systems zum Untersuchen und/oder Sortieren von Partikeln, insbesondere von biologischen Zellen.
- 10 Andere vorteilhafte Weiterbildungen der Erfindung sind in den Unteransprüchen gekennzeichnet oder werden nachstehend zusammen mit der Beschreibung der bevorzugten Ausführungsbeispiele der Erfindung anhand der Figuren näher erläutert. Es zeigen:
- 15 Figur 1 eine schematische Darstellung eines erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems,
 Figur 2 ein weiteres Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems,
 Figur 3 ein anderes alternatives Ausführungsbeispiel eines
20 erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems,
 Figur 4 ein alternatives Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems, bei dem die Sortiereinrichtung stromaufwärts vor dem Verzweigungsbereich angeordnet ist,
- 25 Figur 5 ein weiteres Ausführungsbeispiel eines mikrofluidischen Systems, bei dem die Sortiereinrichtung in dem Trägerstromkanal außermittig angeordnet ist,
 Figur 6 ein erfindungsgemäßes mikrofluidisches System mit drei Ausgangsleitungen,
- 30 Figur 7 ein Ausführungsbeispiel eines mikrofluidischen Systems mit einem mittigen Trägerstromkanal, der von zwei Nebenstromkanälen benachbart ist,

Figur 8 ein Ausführungsbeispiel einer gemeinsamen Elektrodenanordnung, welche die Funktion eines Feldkäfigs und einer Zentriereinrichtung integriert,

5 Figur 9 ein weiteres erfindungsgemäßes Ausführungsbeispiel mit einer Elektrodenanordnung, welche die Funktion eines Feldkäfigs und einer Zentriereinrichtung integriert,

Figur 10 eine schematische Darstellung einer erfindungsgemäßen Elektrodenanordnung sowie

10 Figur 11 ein weiteres Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems.

Die schematische Darstellung in Figur 1 zeigt ein mikrofluidisches System mit einem Trägerstromkanal 1 zur Zuführung eines Trägerstroms mit darin suspendierten Partikeln 2.

In dem Trägerstromkanal 1 ist eine dielektrophoretische Elektrodenanordnung 3 angeordnet, welche die Partikel 2 in dem Trägerstrom zentriert und in Strömungsrichtung hintereinander aufreiht. Der Aufbau und die Funktionsweise der Elektrodenanordnung 3 ist beispielsweise in der bereits eingangs erwähnten Veröffentlichung von MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles" beschrieben, wo die Elektrodenanordnung 3 als

20 "Funnel" bezeichnet wird. Der Inhalt dieser Veröffentlichung ist deshalb der vorliegenden Beschreibung hinsichtlich des Aufbaus und der Funktionsweise der Elektrodenanordnung 3 in vollem Umfang zuzurechnen.

30 Stromabwärts hinter der Elektrodenanordnung 3 befindet sich in dem Trägerstromkanal 1 eine weitere dielektrophoretische Elektrodenanordnung 4, die es ermöglicht, die Partikel 2 vorübergehend zu parken. Der Aufbau und die Funktionsweise der Elektrodenanordnung 4 ist beispielsweise in MÜLLER, T. et

al.: "Life cells in cellprocessors" (Bioworld, 2-2002) beschrieben, wo die Elektrodenanordnung 4 als "Hook" bezeichnet wird. Der Inhalt dieser Veröffentlichung ist deshalb hinsichtlich des Aufbaus und der Funktionsweise der Elektrodenanordnung 4 der vorliegenden Beschreibung in vollem Umfang zuzurechnen, so dass an dieser Stelle auf eine detaillierte Beschreibung der Elektrodenanordnung 4 verzichtet werden kann.

10 Stromabwärts hinter der Elektrodenanordnung 4 verzweigt der Trägerstromkanal 1 in zwei Ausgangsleitungen 5, 6, wobei in dem Verzweigungsbereich eine weitere Elektrodenanordnung 7 angeordnet ist, die wahlweise als dielektrophoretischer Feldkäfig oder als Partikelweiche angesteuert werden kann. Hinsichtlich des Aufbaus und der Ansteuerung der Elektrodenanordnung 7 als Partikelweiche oder als Feldkäfig wird auf die bereits eingangs erwähnte Veröffentlichung von MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles" verwiesen, deren Inhalt der vorliegenden Beschreibung hinsichtlich der Gestaltung der Elektrodenanordnung 7 in vollem Umfang zuzurechnen ist. Die Elektrodenanordnung 7 vereinigt hierbei also die Funktionen zweier im Stand der Technik getrennter Manipulationseinrichtungen, nämlich zum einen die Funktion eines dielektrophoretischen Feldkäfigs (engl. "cage") und zum anderen die Funktion einer Partikelweiche (engl. "switch"). Zur Auswahl der gewünschten Funktion der Elektrodenanordnung 7 müssen die einzelnen Elektroden der Elektrodenanordnung 7 lediglich entsprechend angesteuert werden, was für die einzelnen getrennten Manipulationseinrichtungen ("Cage" oder "Switch") an sich aus der bereits eingangs erwähnten Veröffentlichung von MÜLLER, T. et al. bekannt ist.

In dem Trägerstromkanal 1 befindet sich zwischen den Elektrodenanordnungen 4 und 7 eine erste Messstation 8, die eine Voruntersuchung der in dem Trägerstrom suspendierten Partikel 2 durchführt, wobei die Voruntersuchung in der eingangs beschriebenen Weise erfolgen kann.

In Abhängigkeit von dem Ergebnis der Voruntersuchung wird die Elektrodenanordnung 7 dann entweder als Feldekäfig oder als Partikelweiche geschaltet. Zunächst befindet sich die Elektrodenanordnung 7 im Betriebsmodus Weiche.

Falls das Ergebnis der Untersuchung in der Messstation 8 beispielsweise ergibt, dass der untersuchte Partikel 2 nicht weiter interessiert, so wird dieser Partikel 2 in die Ausgangsleitung 5 für nicht interessierende Partikel befördert. Falls die Untersuchung in der Messstation 8 dagegen ergibt, dass der Partikel 2 den Messkriterien der Voruntersuchung genügt, so wird die Elektrodenanordnung 7 als Feldekäfig geschaltet, so dass der Partikel 2 anschließend im fixierten Zustand in der Elektrodenanordnung 7 durch eine zweite Messstation 9 untersucht werden kann, wobei die zweite Messstation 9 eine detaillierte Untersuchung des Partikels 2 vornimmt, wie bereits eingangs beschrieben wurde. Entsprechend dem Ergebnis der Messung an Messstation 9 kann die Elektrodenanordnung 7 anschließend als Switch geschaltet (siehe Fig. 10 und zugehörige Beschreibung) und der Partikel in eine der Ausgangsleitungen 5 (negativ), 6 (positiv) überführt werden.

Weiterhin ist in der Ausgangsleitung 6 für positiv selektierte Partikel 2 eine Elektrodenanordnung 10 angeordnet, welche die Partikel 2 in der Ausgangsleitung 6 zentriert und dadurch ein Absinken der Partikel 2 in der Ausgangsleitung 6 verhindert.

Schließlich ist noch zu erwähnen, dass in die Ausgangsleitung 6 zwei Hüllstromleitungen 11, 12 münden, was an sich ebenfalls bekannt ist.

5 Das in Figur 2 dargestellte alternative Ausführungsbeispiel stimmt weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 1 dargestellten Ausführungsbeispiel überein, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen auf die vorstehende Beschreibung verwiesen wird, wobei für entsprechende Bauteile dieselben Bezugszeichen verwendet werden.

Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass die Elektrodenanordnung 7 hierbei lediglich sechs räumlich angeordnete Elektroden aufweist, die jedoch ebenfalls wahlweise als Feldkäfig oder als Partikelweiche schaltbar sind.

Schließlich stimmt auch das in Figur 3 dargestellte alternative Ausführungsbeispiel weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 1 dargestellten Ausführungsbeispiel überein, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen weitgehend auf die vorstehende Beschreibung zu Figur 1 verwiesen wird, wobei für entsprechende Bauteile im Folgenden dieselben Bezugszeichen verwendet werden.

25 Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass die Elektrodenanordnung 7 hierbei eine Pfeilelektrode 13 aufweist, die entgegen der Strömungsrichtung ausgerichtet ist und permanent angesteuert wird, wobei an die Pfeilelektrode 13 zwei Ablenkelektroden angrenzen, die zur Ablenkung in die gewünschte Ausgangsleitung 5 bzw. 6 jeweils einzeln angesteuert werden. Diese Konfiguration wird auch als "Ultra Fast Sorter" (UFS) bezeichnet und ermöglicht eine schnelle Sortierung der suspendierten Partikel 2.

Das in Figur 4 dargestellte Ausführungsbeispiel stimmt weitgehend mit den vorstehend beschriebenen Ausführungsbeispielen überein, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen weitgehend auf die vorstehende Beschreibung verwiesen wird, wobei für entsprechende Bauteile dieselben Bezugszeichen verwendet werden und nur die Besonderheiten dieses Ausführungsbeispiels beschrieben werden.

10 Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass die Elektrodenanordnung 7 in dem Trägerstromkanal 1 stromaufwärts vor dem Verzweigungsbereich der beiden Ausgangsleitungen 5, 6 angeordnet ist. In dem Trägerstromkanal 1 verläuft hierbei mittig eine flächige Trennlinie 14, wobei in
15 der Zeichnung schwarz dargestellte Partikel 15 in die Ausgangsleitung 5 für negativ selektierte Partikel strömen, wohingegen in der Zeichnung in einer Umrisslinie dargestellte Partikel 16 in die andere Ausgangsleitung 6 für positiv selektierte Partikel strömen. Die Trennlinie 14 wird auch als
20 Separatrix bezeichnet und trennt in dem Trägerstromkanal 1 zwei Teilströme, die ohne eine Ansteuerung der Elektrodenanordnung 7 als Partikelweiche in die jeweils zugehörige obere bzw. untere Ausgangsleitung 5 bzw. 6 strömen. Zur Erreichung einer definierten Sortierung der Partikel 15, 16 auf die bei-
25 den Ausgangsleitungen 5, 6 muss die gemeinsame Elektrodenanordnung 7 also hierbei stets als Partikelweiche aktiv angesteuert werden.

Das in Figur 5 dargestellte alternative Ausführungsbeispiel
30 eines mikrofluidischen Systems stimmt weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 4 dargestellten Ausführungsbeispiel überein, so dass weitgehend auf die vorstehende Beschreibung verwiesen wird und im Folgenden für entsprechende Bauteile die selben Bezugszeichen verwendet werden.

Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass die wahlweise als Partikelweiche oder als Feldkäfig ansteuerbare gemeinsame Elektrodenanordnung 7 in dem Trägerstromkanal 1 außermittig angeordnet ist. Dies bedeutet, dass sich die Elektrodenanordnung 7 bezüglich der Strömungsrichtung in dem Trägerstromkanal 1 seitlich neben der Trennlinie 14 auf der Seite der Ausgangsleitung 6 befindet. Dies bedeutet, dass die Partikel 15, 16 selbständig in die Ausgangsleitung 6 strömen, wenn die Elektrodenanordnung 7 nicht aktiv als Partikelweiche angesteuert wird, um die Partikel 15 über die Trennlinie 14 hinaus auf die andere Seite des Trägerstromkanals 1 abzulenken. Dieses Ausführungsbeispiel ist deshalb dann vorteilhaft, wenn der Anteil der negativ zu selektierenden Partikel 15 wesentlich kleiner ist als der Anteil der positiv zu selektierenden Partikel 16, da nur zum Aussortieren der relativ geringen Anzahl der negativ zu selektierenden Partikel 15 eine Ansteuerung der Elektrodenanordnung 7 erforderlich ist.

Figur 6 zeigt ein weiteres Ausführungsbeispiel eines mikrofluidischen Systems mit einem Trägerstromkanal 17 zur Zuführung eines Trägerstroms mit darin suspendierten Partikeln 18, 19, 20, wobei sich die Partikel 18, 19, 20 unterscheiden, was in der Zeichnung durch die unterschiedliche grafische Darstellung der Partikel 18, 19, 20 angedeutet ist.

Der Trägerstromkanal 17 verzweigt stromabwärts in drei Ausgangsleitungen 21, 22, 23 zur Aufnahme und Abführung der verschiedenen Partikel 18, 19, 20. Die Ausgangsleitung 21 dient hierbei zur Aufnahme der schwarz gezeichneten Partikel 20, während die Ausgangsleitung 22 zur Abführung der schraffiert dargestellten Partikel 19 dient, wohingegen die Ausgangslei-

tung 23 die als Umrisslinie gezeichneten Partikel 18 aufnimmt und abführt.

5 In dem Trägerstromkanal 17 verlaufen hierbei zwei (gedachte) Trennflächen bzw. flächige Trennlinien 24, 25, die in dem Trägerstromkanal 17 drei Teilströme abgrenzen und in der dargestellten Aufsicht die Trennlinien 24, 25 bilden.

10 Die in dem oberen Teilstrom oberhalb der Trennlinie 24 suspendierten Partikel gelangen hierbei selbständig in die Ausgangsleitung 21, sofern diese Partikel nicht aktiv abgelenkt werden, wie im Folgenden noch detailliert beschrieben wird.

15 Die Partikel, die in dem Trägerstrom zwischen den beiden Trennlinien 24, 25 suspendiert sind, gelangen dagegen ohne eine externe Ablenkung selbständig in die Ausgangsleitung 22.

20 Ferner strömen die in dem Trägerstrom unterhalb der Trennlinie 25 suspendierten Partikel selbständig in die Ausgangsleitung 23, sofern diese Partikel nicht aktiv abgelenkt werden, wie noch detailliert beschrieben wird.

25 In dem Trägerstromkanal 17 befindet sich stromaufwärts zunächst eine Zentriereinrichtung 26, welche die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel 18, 19, 20 auf der Trennlinie 25 aufreht und einer nachfolgenden Elektrodenanordnung 27 zuführt. Die Elektrodenanordnung 27 vereinigt die Funktion eines Feldkäfigs mit der Funktion einer Ablenkeinrichtung (engl. "switch").

30

Bei einer Ansteuerung als Feldkäfig kann die Elektrodenanordnung 27 die Partikel 18, 19 bzw. 20 fixieren, damit die Partikel 18, 19 bzw. 20 von einer Messstation untersucht werden, die zur Vereinfachung nicht dargestellt ist.

Bei einer Ansteuerung als Partikelweiche bzw. Ablenkeinrichtung kann die Elektrodenanordnung 27 die Partikel 18, 19 bzw. 20 dagegen in Abhängigkeit von dem Ergebnis der vorangegangenen Untersuchung in der Messstation entweder geradeaus weiterströmen lassen oder seitlich in den Teilstrom zwischen den beiden Trennlinien 24, 25 ablenken.

Stromabwärts hinter der Elektrodenanordnung 27 befindet sich eine weitere Zentriereinrichtung 28, die in dem Trägerstromkanal 17 außermittig angeordnet ist und die in den beiden Teilströmen beiderseits der Trennlinie 24 suspendierten Partikel auf der Trennlinie 24 aufreiht und einer weiteren Elektrodenanordnung 29 zuführt, die wahlweise als Feldkäfig oder als Partikelweiche ansteuerbar ist.

Bei einer Ansteuerung der Elektrodenanordnung 29 als Feldkäfig kann die Elektrodenanordnung 29 die Partikel 19 bzw. 20 fixieren, damit diese durch eine Messstation untersucht werden können, die zur Vereinfachung nicht dargestellt ist.

Bei einer Ansteuerung als Partikelweiche kann die Elektrodenanordnung die Partikel wahlweise in den oberhalb der Trennlinie 24 befindlichen Teilstrom oder in den unterhalb der Trennlinie 24 befindlichen Teilstrom ablenken, damit die Partikel in die gewünschte Ausgangsleitung 21 bzw. 22 strömen. Die Ansteuerung der Elektrodenanordnung 29 als Partikelweiche zur Sortierung der Partikel auf die beiden Ausgangsleitungen 21, 22 erfolgt hierbei in Abhängigkeit von dem Ergebnis der vorangegangenen Untersuchung der nicht dargestellten Messstation.

Die Elektrodenanordnungen 27, 29 können wie in Figur 9 in einer alternativen Ausführung zusätzlich die Funktion der Zent-

riereinrichtung 26, 28 übernehmen, womit diese vorgelagerten Elemente entfallen können.

Figur 7 zeigt in einer Seitenansicht ein weiteres Ausführungsbeispiel eines mikrofluidischen Systems mit einem Trägerstromkanal 30 und zwei benachbarten Nebenstromkanälen 31, 32, wobei die beiden Nebenstromkanäle 31, 32 von dem Trägerstromkanal 30 durch jeweils eine Trennwand 33, 34 getrennt sind.

10

Über den Trägerstromkanal 30 werden dem mikrofluidischen System hierbei suspendierte Partikel 35, 36, 37 zugeführt, wobei sich die Partikel 35, 36, 37 unterscheiden und entsprechend auf die beiden Nebenstromkanäle 31, 32 oder auf den weiterführenden Trägerstromkanal 30 verteilt werden.

15

In dem Trägerstromkanal 30 befindet sich an dessen stromaufwärts gelegenen Ende zunächst eine Elektrodenanordnung 38, um die Partikel 35, 36, 37 in dem Trägerstromkanal 30 mittig aufzureihen.

20

Stromabwärts hinter der Elektrodenanordnung 38 weisen die Trennwände 33, 34 jeweils einen Durchbruch auf, durch den die Partikel 36, 37 in die benachbarten Nebenstromkanäle 31, 32 abgelenkt werden können. Hierzu ist im Bereich der Durchbrüche eine Elektrodenanordnung angeordnet, die wahlweise als Feldkäfig oder als Partikelweiche ansteuerbar ist, wobei die gemeinsame Elektrodenanordnung aus acht Elektroden besteht, von denen hier nur vier Elektroden 39, 40, 41, 42 erkennbar sind.

25

30

Bei einer Ansteuerung der gemeinsamen Elektrodenanordnung als Feldkäfig können die Partikel 35, 36 bzw. 37 in dem Feldkäfig fixiert werden, um eine detaillierte Untersuchung durch eine

Messstation zu ermöglichen, die zur Vereinfachung nicht dargestellt ist.

5 In Abhängigkeit von dem Ergebnis dieser Untersuchung kann die gemeinsame Elektrodenanordnung dann als Partikelweiche angesteuert werden, um die Partikel 37 in den Nebenstromkanal 31 zu befördern und die Partikel 36 in den Nebenstromkanal 32 abzulenken.

10 Außerdem können wie in Figur 1 beschrieben die Partikel durch die Acht-Elektrodenanordnung auch in verschiedene Strömungspfade (in der gezeigten Ebene sowie davor bzw. dahinter) der Kanäle 30, 31 und 32 gelenkt und damit bis zu 9 verschiedene fluidische Ausgänge (zur Fraktionierung) adressiert werden.

15 Das in Figur 8 dargestellte Ausführungsbeispiel eines mikrofluidischen Systems stimmt weitgehend mit dem vorstehend beschriebenen und in Figur 4 dargestellten Ausführungsbeispiel überein, so dass zur Vermeidung von Wiederholungen weitgehend auf die vorstehende Beschreibung verwiesen wird und für entsprechende Bauteile die selben Bezugszeichen verwendet werden.

25 Eine Besonderheit dieses Ausführungsbeispiels besteht darin, dass die Funktionen der Elektrodenanordnungen 3 und 7 in Figur 4 bei diesem Ausführungsbeispiel in einer einzigen Elektrodenanordnung 43 integriert sind, wobei die Elektrodenanordnung 43 wahlweise als Zentriereinrichtung (engl. "funnel"), als Feldkäfig (engl. "field cage") oder als Partikelweiche
30 (engl. "switch") ansteuerbar ist.

Die Elektrodenanordnung 43 weist hierbei Elektroden auf, die in Strömungsrichtung aufeinander zulaufen, wobei die Endspitzen dieser Elektroden konvex, z.B. halbkreisförmig geformt

sind. Mit Hilfe dieser besonderen Gestaltung kann die Elektrodenanordnung 43 auch Partikel halten.

5 Ferner zeigt Figur 9 eine schematische Darstellung einer gemeinsamen Elektrodenanordnung, die wahlweise als Zentriereinrichtung oder als Feldkäfig ansteuerbar ist. Hierzu weist die Elektrodenanordnung acht quaderförmig angeordnete Käfigelektroden auf, wobei in der Aufsicht nur vier Käfigelektroden 44, 45, 46, 47 erkennbar sind.

10

Weiterhin sind hierbei vier herkömmlich angeordnete Ablenkelektroden vorgesehen, wobei in der Aufsicht nur zwei Ablenkelektroden 48, 49 erkennbar sind.

15 Die stromaufwärts gelegenen Käfigelektroden 45, 47 sind hierbei mit jeweils einer der beiden Ablenkelektroden 48, 49 elektrisch verbunden und gemeinsam mit diesen ansteuerbar.

20 Potentielle Ansteuermöglichkeiten für die in Figur 9 dargestellte Elektrodenanordnung, insbesondere Rot, AC I und AC II Modus, sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Rot und AC I Modus eignen sich sowohl zum Fangen der Partikel im Feldkäfig, als auch zum Aufreihen der Partikel. Wobei der Rot-Modus den Vorteil hat, dass er das Eintreten der Partikel
25 in den Käfig wesentlich effektiver verhindert als der AC I Modus.

In einer alternativen Ausführung der in Figur 9 dargestellten Elektrodenanordnung ist eine(s) der Elektroden(paare) 49, bzw. 48 an der stromabwärtsliegenden Spitze verlängert und
30 als Haken (hook) über die Zentrallinie ausgeführt. Das andere Elektrodenpaar ist stromaufwärts versetzt oder kann in einer weiteren möglichen Ausführungsform auch entfallen. Damit lässt sich zusätzlich in den Modi Rot und AC I ein Zwischen-

speichern der Partikel vor dem eigentlichen Käfig realisieren.

Der AC II Modus zeichnet sich durch ein besonders stabiles Halten (ohne Rotation) der Partikel aus und ist damit für hochauflösende Messungen besonders geeignet.

Um in diesem Modus ein Vorhalten der Partikel zu Realisieren ist folgende Anordnung zu verwenden: Je eine Elektrode des beschriebenen Paares Elektroden (48, 49) ist in verschiedenen Ebenen hakenförmigen verlängert ausgeführt. Damit wird in den Modi Rot und AC II eine Hakenfunktion sichergestellt. Falls auf die Aufreihfunktion verzichtet werden kann, so ist in dieser Ausführungsform die kürzere gerade Gegenelektrode (48,49) entbehrlich.

Schließlich zeigt Figur 10 eine schematische Darstellung der geometrischen Anordnung von acht Käfigelektroden 50, 50', 51, 51', 52, 52', 53, 53', wobei die Strömungsrichtung hierbei in Y-Richtung verläuft.

Die elektrische Ansteuerung der einzelnen Käfigelektroden 50, 50', 51, 51', 52, 52', 53, 53' ist beispielsweise in der bereits eingangs erwähnten Veröffentlichung von MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles" beschrieben, deren Inhalt der vorliegenden Beschreibung in vollem Umfang zuzurechnen ist. Um einen gefangenen Partikel in Y-Richtung zu entlassen, werden die Käfigelektroden 52, 52', 53, 53' hinreichend geschwächt, was beispielsweise durch Ausschalten dieser Käfigelektroden erfolgen kann. Analoges gilt für die X- bzw. Y-Richtung. Eine Schwächung der Elektroden 52, 52' führt zu einem Entweichen des gefangenen Partikels in XY-Richtung (1,1,0-Richtung). Wird dagegen nur die Elektrode 52' ge-

schwächt, so verlässt der gefangene Partikel den Feldkäfig in 1,1,1-Richtung. Ein besonders schnelles Partikelentweichen (Katapultmodus) kann dadurch erreicht werden, dass an mindestens einer weiteren Elektrode (z.B. der gegenüberliegenden Elektrode) die Spannung erhöht und/oder die Phasenlage geändert wird.

In analoger Weise kann ein Partikel auch in definierter Weise in den Käfig hereingelassen werden, bzw. definierte Trajektorien durchlaufen, womit sich auch Weichenfunktionen des Käfigs realisieren lassen. Exemplarisch wird dieses im Folgenden beschrieben. Die aus MÜLLER, T. et al.: "A 3-D microelectrode system for handling and caging single cells and particles", bekannten Ansteuerarten umfassen Rotations- und AC-Feld-Modi, welche in Tabelle 1 mit Bezug auf die Elektrodenbezeichnungen in Figur 10 wiedergegeben sind. Diese Modi können Partikel im Käfig fangen und in definierte Richtung entlassen, wie oben beschrieben. Desweiteren werden exemplarisch Weichenmodi angegeben, die Partikel, die aus der y-Richtung anströmen, in die xy-Richtung bzw. xy-Richtung auslenken.

Tabelle 1: Beispielhafte Phasenlagen für Ansteuermodi eines Oktodenfeldkäfigs

	50	51	52	53	50'	51'	52'	53'
Rot	0°	90°	180°	270°	180°	270°	0°	90°
AC I	0°	180°	0°	180°	180°	0°	180°	0°
AC II	0°	180°	0°	180°	0°	180°	0°	180°
Weiche in (1,1,0)	0°	ground	90°	ground	270°	ground	180°	ground
Weiche in (-1,1,0)	Ground	0°	ground	90°	ground	270°	ground	180°

Schließlich zeigt Figur 11 ein weiteres Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen mikrofluidischen Systems, wobei in Pfeilrichtung ein Trägerstrom mit darin suspendierten Partikel strömt.

5

Im stromaufwärts gelegenen Bereich des mikrofluidischen Systems sind zunächst mehrere trichterförmig angeordneten Elektroden 54, 55 angeordnet, welche die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel auf einer Mittellinie 56 zentrieren.

10

Stromabwärts hinter den Elektroden 54, 55 befindet sich eine Elektrodenanordnung 57, die zum Fangen der Partikel und zum schnellen Schalten in zwei Strömungspfade dient. Die Elektrodenanordnung 57 weist an ihrem stromaufwärts gelegenen Ende einen Feldkäfig auf, der aus mehreren Elektroden 58-61 besteht. Weiterhin weist die Elektrodenanordnung 57 beiderseits der Mittellinie 56 mehrere Ablenkelektroden 62, 63 auf, welche die Partikel bei einer entsprechenden Ansteuerung in einen von zwei Strömungspfaden ablenken. Die Ablenkelektroden 62, 63 sind hierbei galvanisch mit den Elektroden 58, 61 des Feldkäfigs verbunden.

20

Die Erfindung ist nicht auf die vorstehend beschriebenen bevorzugten Ausführungsbeispiele beschränkt. Vielmehr ist eine Vielzahl von Varianten und Abwandlungen möglich, die ebenfalls von dem Erfindungsgedanken Gebrauch machen und deshalb in den Schutzbereich fallen.

25

Bezugszeichenliste:

1	Trägerstromkanal	44	Käfigelektrode
2	Partikel	45	Käfigelektrode
3	Elektrodenanordnung	46	Käfigelektrode
4	Elektrodenanordnung	47	Käfigelektrode
5	Ausgangsleitung	48	Ablenkelektrode
6	Ausgangsleitung	49	Ablenkelektrode
7	Elektrodenanordnung	50, 50'	Käfigelektrode
8	Messstation	51, 51'	Käfigelektrode
9	Messstation	52, 52'	Käfigelektrode
10	Elektrodenanordnung	53, 53'	Käfigelektrode
11	Hüllstromleitung	54, 55	Elektroden
12	Hüllstromleitung	56	Mittellinie
13	Pfeilelektrode	57	Elektrodenanordnung
14	Trennlinie	58-61	Elektroden
15	Partikel	62, 63	Ablenkelektroden
16	Partikel		
17	Trägerstromkanal		
18	Partikel		
19	Partikel		
20	Partikel		
21	Ausgangsleitung		
22	Ausgangsleitung		
23	Ausgangsleitung		
24	Trennlinie		
25	Trennlinie		
26	Zentriereinrichtung		
27	Elektrodenanordnung		
28	Zentriereinrichtung		
29	Elektrodenanordnung		
30	Trägerstromkanal		
31	Nebenstromkanal		
32	Nebenstromkanal		
33	Trennwand		
34	Trennwand		
35	Partikel		
36	Partikel		
37	Partikel		
38	Elektrodenanordnung		
39	Elektrode		
40	Elektrode		
41	Elektrode		
42	Elektrode		
43	Elektrodenanordnung		

ANSPRÜCHE

5

1. Mikrofluidisches System, insbesondere in einem Partikelsortierer, mit

- mindestens einem Trägerstromkanal (1) zur Zuführung eines Trägerstroms mit darin suspendierten Partikeln (2),
- 10 - einer in dem Trägerstromkanal (1) angeordneten ersten Manipulationseinrichtung zur Manipulation der in dem Trägerstrom suspendierten Partikel (2),
- einer in dem Trägerstromkanal (1) angeordneten zweiten Manipulationseinrichtung zur Manipulation der in dem Träger-
- 15 strom suspendierten Partikel (2),

dadurch gekennzeichnet, dass

die erste Manipulationseinrichtung und die zweite Manipulationseinrichtung eine gemeinsame Elektrodenanordnung (7) aufweisen.

20

2. Mikrofluidisches System nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass** die gemeinsame Elektrodenanordnung zusätzlich eine dritte Manipulationseinrichtung bildet.

25

3. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die gemeinsame Elektrodenanordnung (7) mindestens eine Elektrode aufweist, die sowohl Bestandteil der ersten Manipulationseinrichtung als auch Bestandteil der zweiten Manipulationseinrichtung ist.

30

4. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die erste Manipulationseinrichtung ein Feldkäfig ist, der die Partikel (2) fixiert.

5. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die zweite Manipulationseinrichtung eine Partikelweiche ist.

5

6. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die zweite oder die dritte Manipulationseinrichtung eine Zentriereinrichtung ist, welche die Partikel in dem Trägerstromkanal zentriert.

10

7. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Trägerstromkanal (1) in einem Verzweigungsbereich in mehrere Ausgangsleitungen (5, 6) verzweigt.

15

8. Mikrofluidisches System nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet, dass** die gemeinsame Elektrodenanordnung (7) vor oder in dem Verzweigungsbereich angeordnet ist.

20

9. Mikrofluidisches System nach Anspruch 7 oder 8, **dadurch gekennzeichnet, dass** in dem Trägerstromkanal eine Trennlinie (14) verläuft, wobei die auf der einen Seite der Trennlinie (14) befindlichen Partikel (15) ohne eine Ansteuerung der Partikelweiche (7) in die eine Ausgangsleitung (5) strömen, während die auf der anderen Seite der Trennlinie (14) befindlichen Partikel (16) ohne eine Ansteuerung der Partikelweiche (7) in die andere Ausgangsleitung (6) strömen.

25

10. Mikrofluidisches System nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Partikelweiche (7) im Wesentlichen auf der Trennfläche (14) angeordnet ist.

30

11. Mikrofluidisches System nach Anspruch 9, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Partikelweiche seitlich neben der Trennlinie angeordnet ist.

5 12. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** neben dem Trägerstromkanal (30) mindestens ein Nebenstromkanal (31, 32) verläuft, der von dem Trägerstromkanal (30) durch eine Trennwand (33, 34) getrennt ist, wobei sich in der Trennwand (33, 34)
10 ein Durchbruch befindet, in dem die Partikelweiche (39-42) angeordnet ist.

13. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Elektrodenanordnung (7) mindestens eine pfeilförmige Elektrode (13) und mehrere Ablenkelektroden aufweist, wobei die pfeilförmige Elektrode (13) entgegen der Strömungsrichtung des Trägerstroms ausgerichtet ist, während die Ablenkelektroden stromaufwärts vor der pfeilförmigen Elektrode (13) angeordnet sind und an
20 die pfeilförmige Elektrode (13) angrenzen.

14. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Elektrodenanordnung (7) vier, sechs oder acht getrennt ansteuerbare Elektroden aufweist.
25

15. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, dass** der Feldkäfig acht Elektroden (44-47) aufweist, während die Zentriereinheit (48, 49) vier Elektroden aufweist, wobei die vier stromaufwärts gelegenen Elektroden (45, 46) des Feldkäfigs elektrisch mit jeweils einer der Elektroden (48, 49) der Zentriereinheit verbunden sind.
30

16. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **gekennzeichnet durch** eine erste Messstation (8), welche die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel (2) stromaufwärts vor der gemeinsamen Elektrodenanordnung (7) im strömenden Zustand untersucht.

17. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **gekennzeichnet durch** eine zweite Messstation (9), welche die in dem Feldkäfig fixierten Partikel (2) untersucht.

18. Mikrofluidisches System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **gekennzeichnet durch** eine Steuereinheit zur Ansteuerung der gemeinsamen Elektrodenanordnung, wobei die Steuereinheit eingangsseitig mit der ersten Messstation und/oder der zweiten Messstation verbunden ist und die gemeinsame Elektrodenanordnung in Abhängigkeit von der Untersuchung in der ersten Messstation und/oder der zweiten Messstation ansteuert.

19. Partikelsortierer mit einem mikrofluidischen System nach einem der vorhergehenden Ansprüche.

20. Ansteuerungsverfahren für eine Elektrodenanordnung (7), die in einem Trägerstromkanal (1) eines mikrofluidischen Systems angeordnet ist, wobei in dem Trägerstromkanal (1) ein Trägerstrom mit darin suspendierten Partikeln (2) strömt, während die Elektrodenanordnung (7) so elektrisch angesteuert wird, dass die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel (2) von der Elektrodenanordnung (7) einer ersten Manipulation unterzogen werden, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Elektrodenanordnung (7) wahlweise zur Durchführung der ersten Manipula-

tion an den Partikeln (2) oder zur Durchführung einer zweiten Manipulation an den Partikeln (2) angesteuert wird.

21. Ansteuerungsverfahren nach Anspruch 20, **dadurch gekennzeichnet, dass** die erste Manipulation eine Fixierung der suspendierten Partikel (2) umfasst, während die zweite Manipulation eine Sortierung der suspendierten Partikel (2) umfasst.

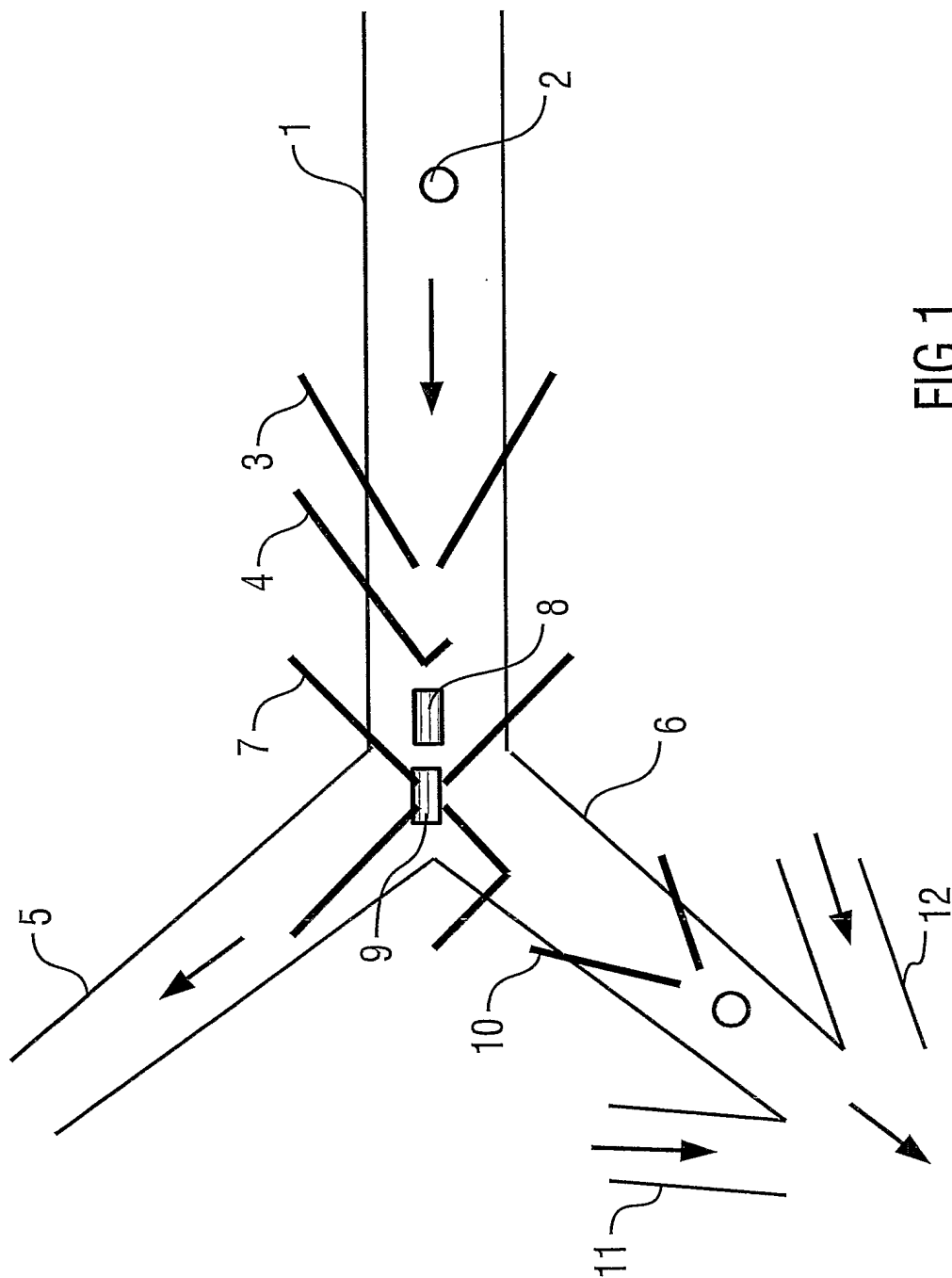
22. Ansteuerungsverfahren nach einem der Ansprüche 20 bis 21, **dadurch gekennzeichnet, dass** die in dem Trägerstrom suspendierten Partikel (2) untersucht werden.

23. Ansteuerungsverfahren nach Anspruch 22, **dadurch gekennzeichnet, dass** die Elektrodenanordnung (7) in Abhängigkeit von der Untersuchung der Partikel (2) zur Durchführung der ersten Manipulation und/oder der zweiten Manipulation angesteuert wird.

24. Verwendung eines mikrofluidischen Systems nach einem der Ansprüche 1 bis 18 zur Untersuchung und/oder Sortierung von Partikeln, insbesondere von biologischen Zellen.

* * * * *

1/10



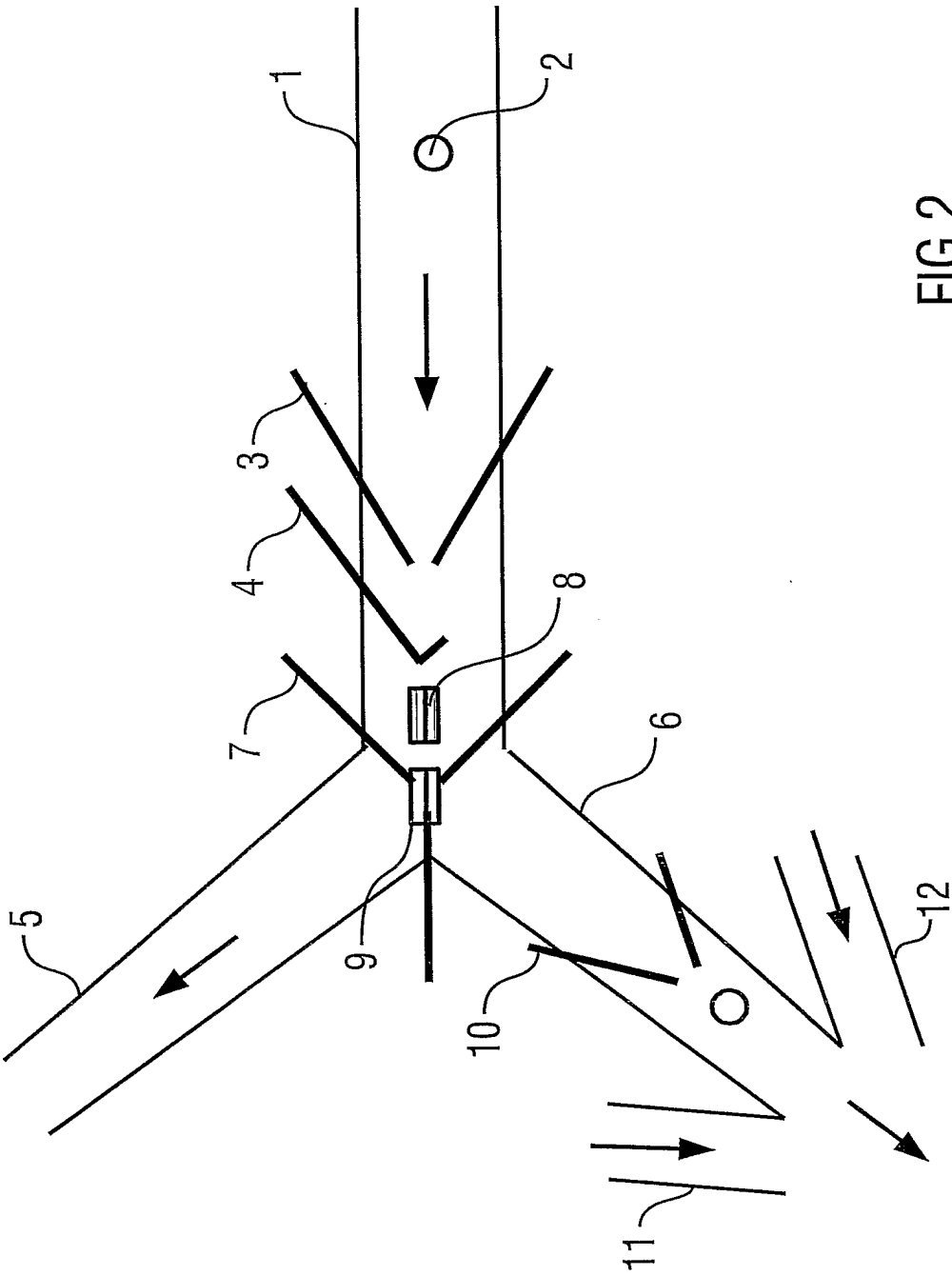


FIG 2

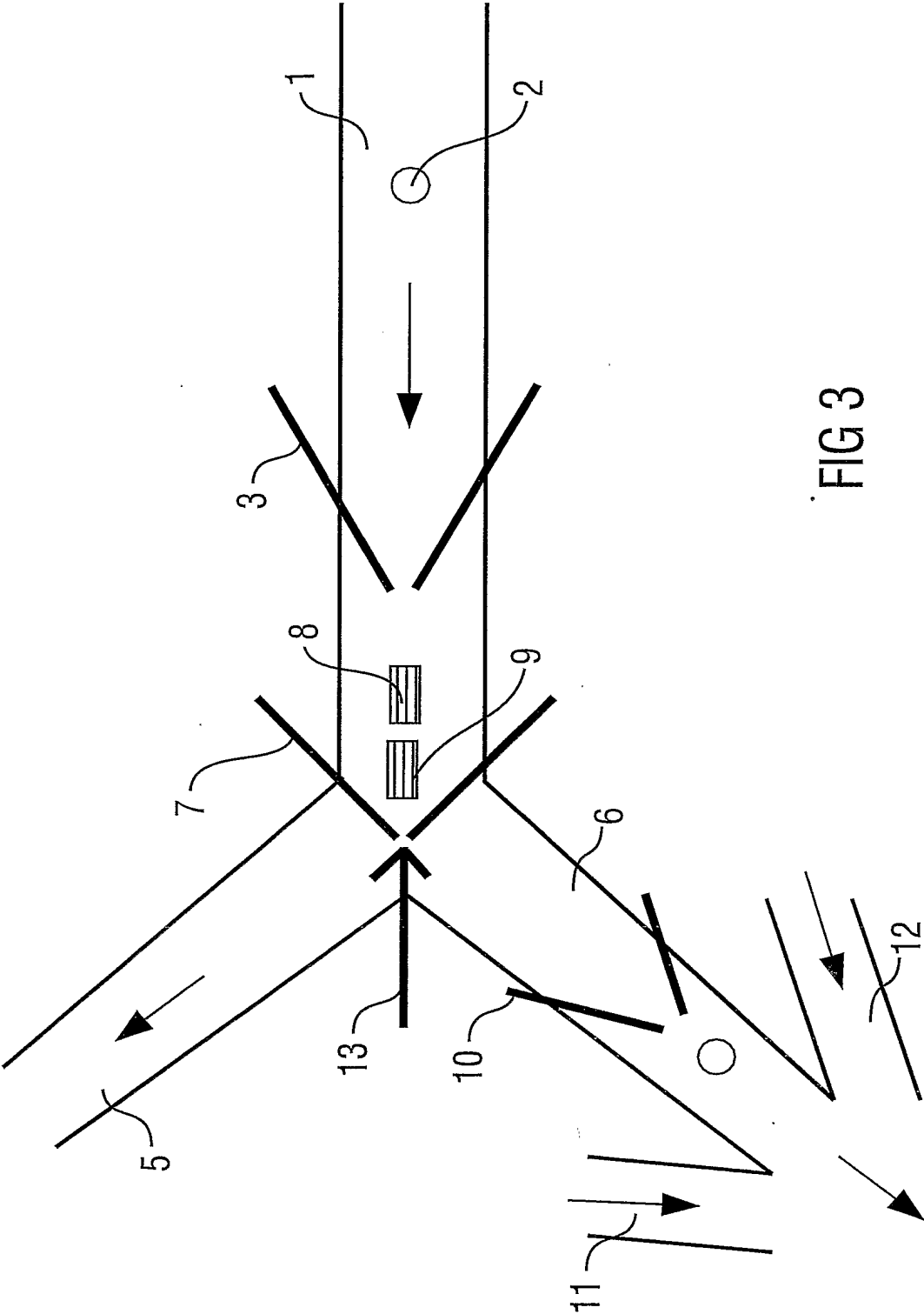


FIG 3

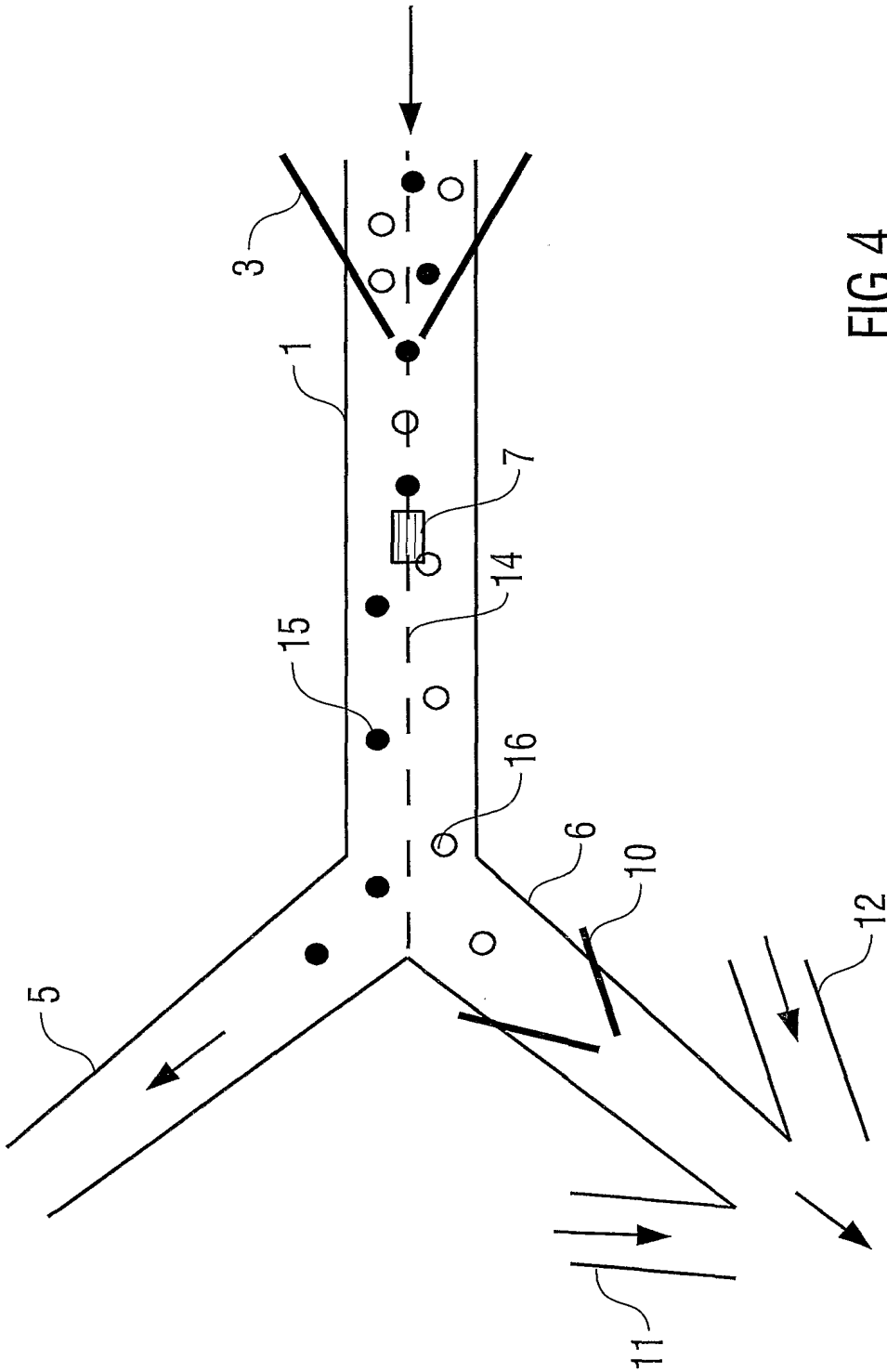


FIG 4

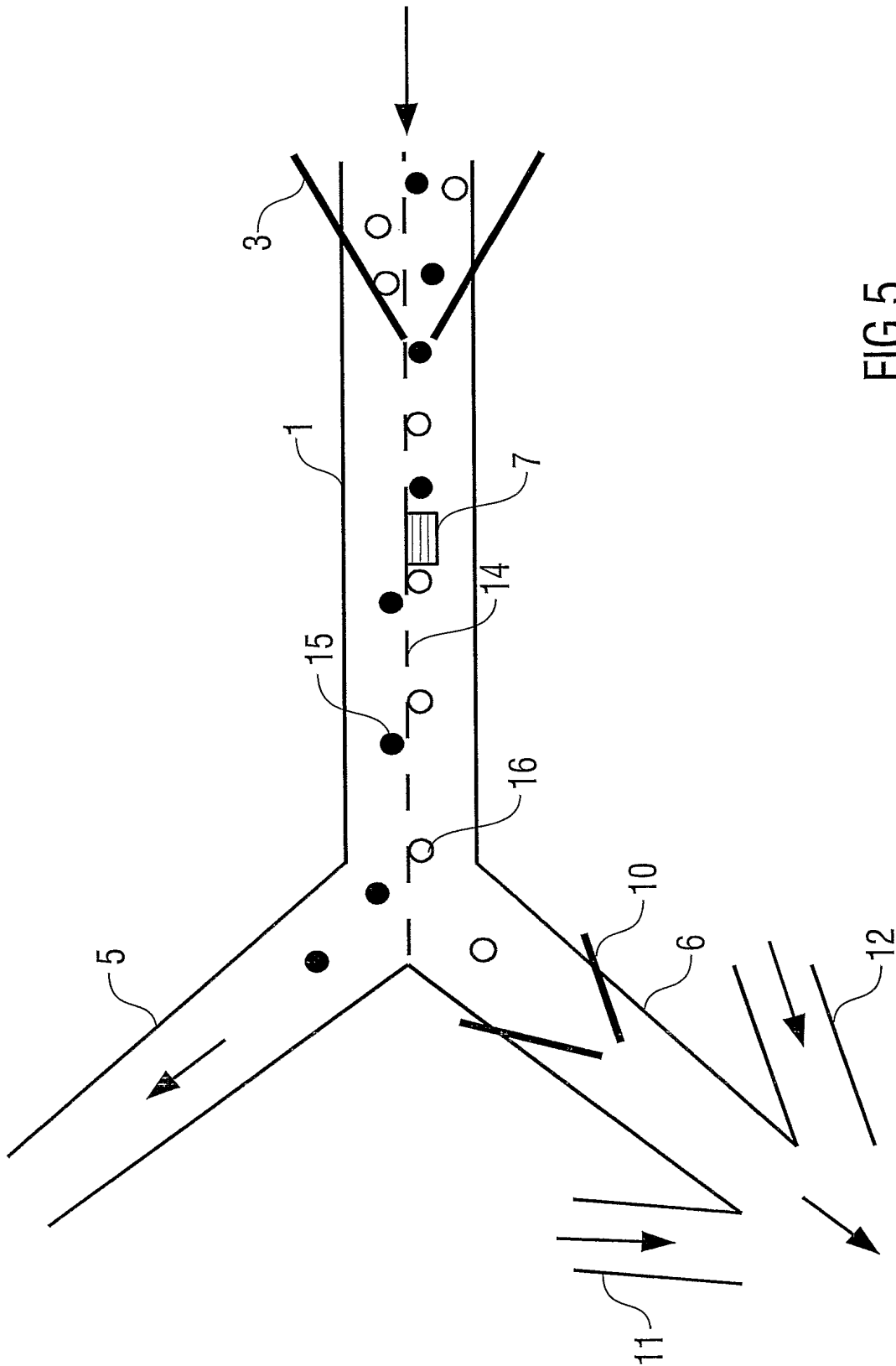


FIG 5

6/10

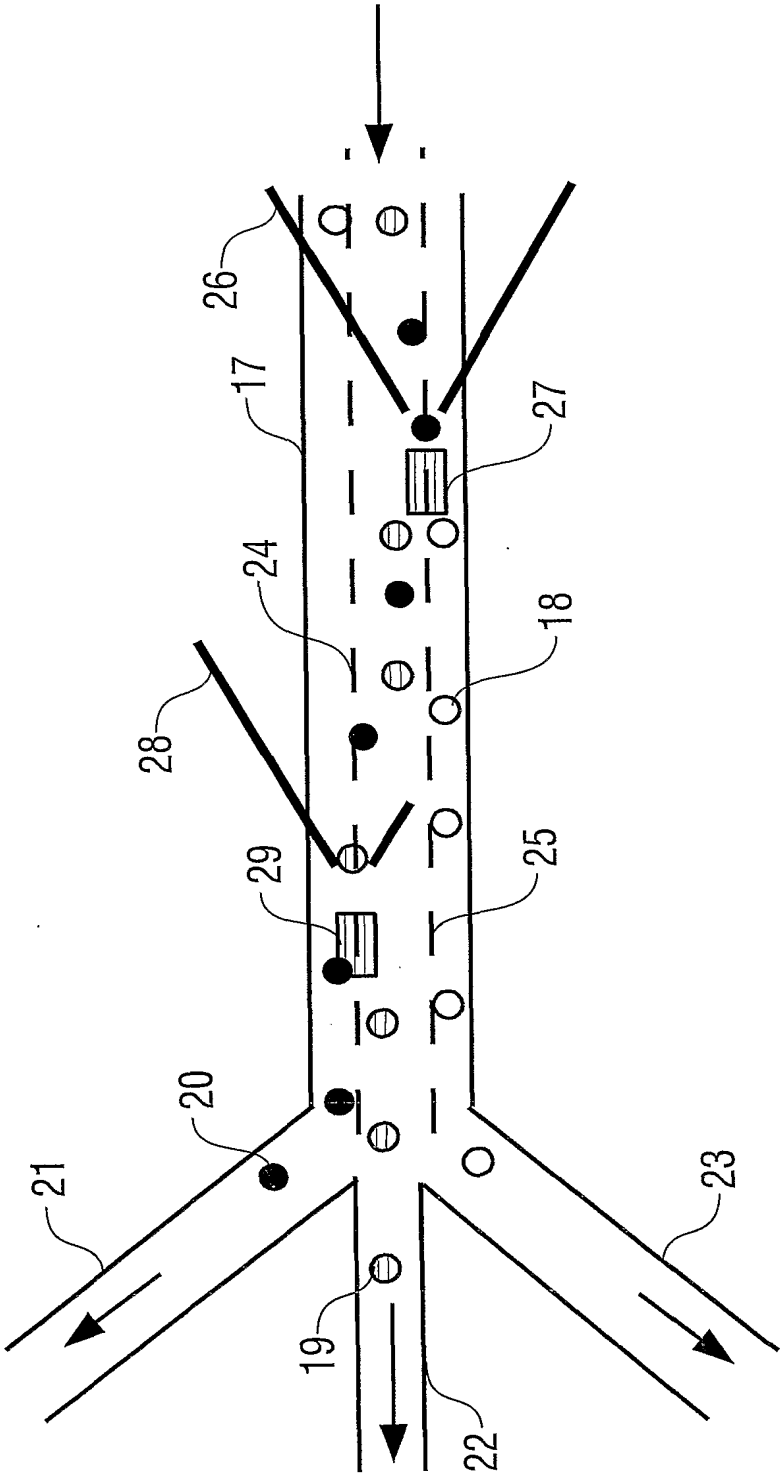


FIG 6

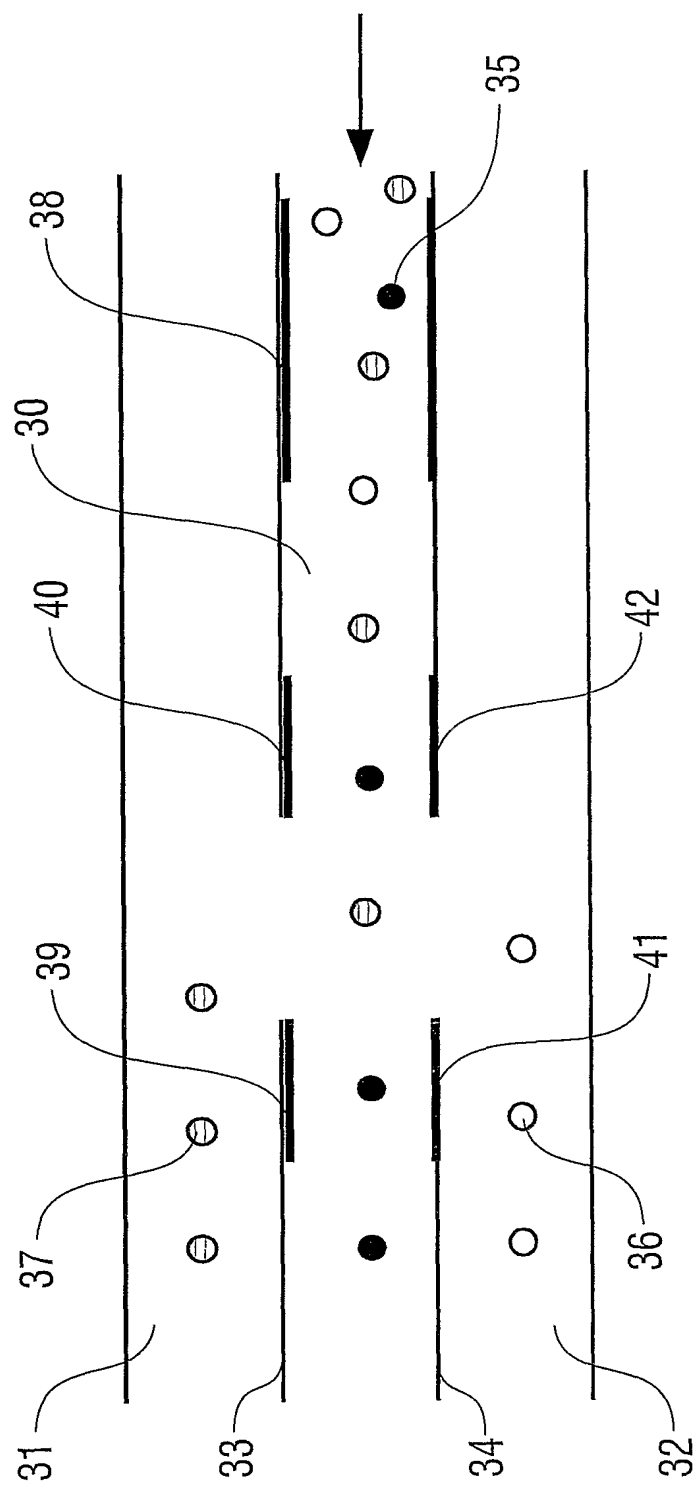


FIG 7

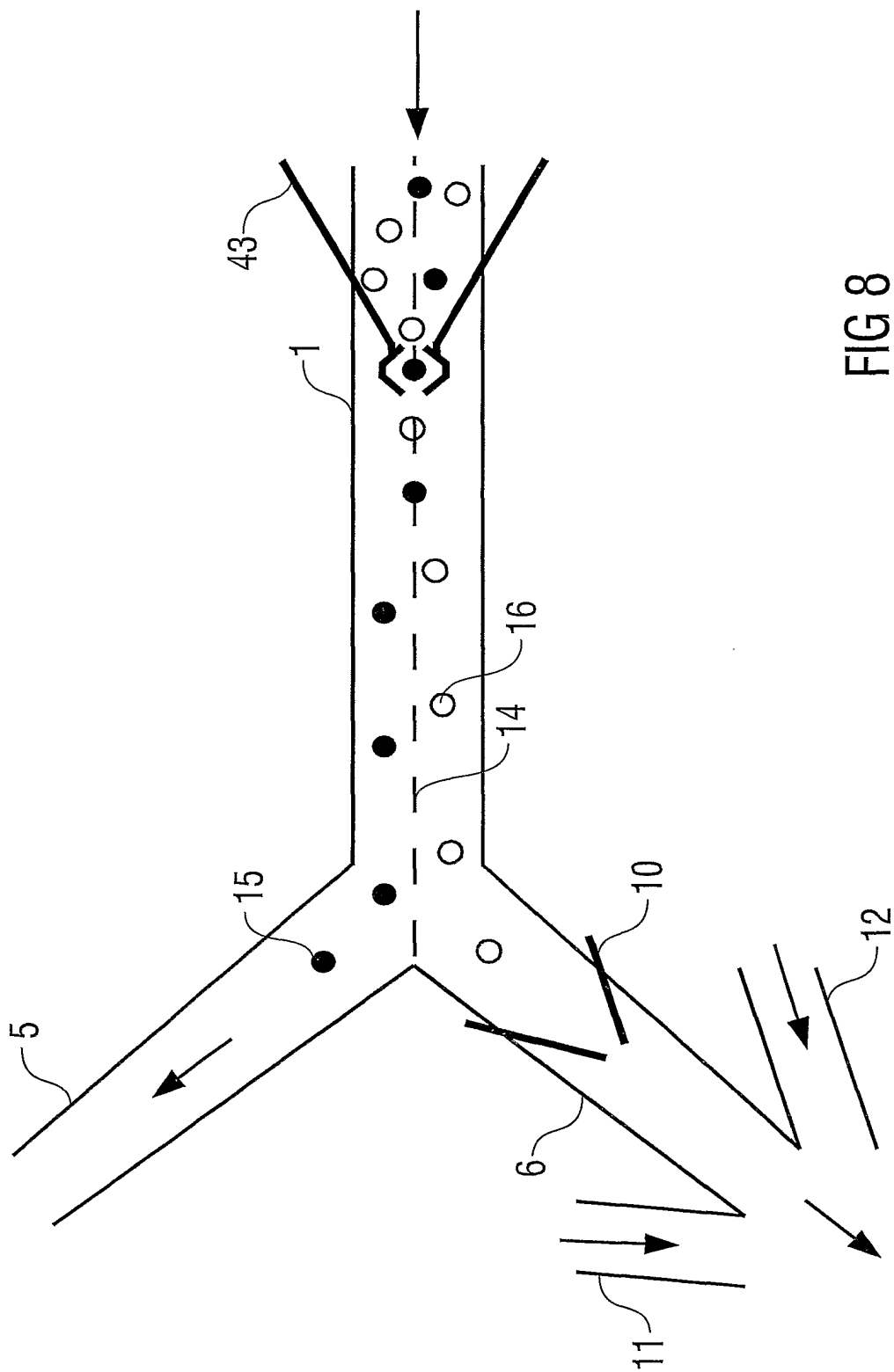


FIG 8

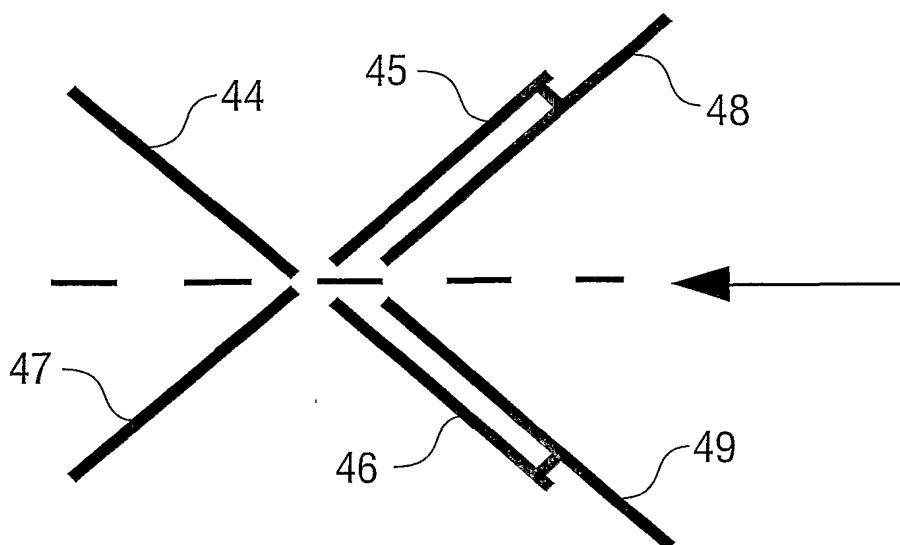


FIG 9

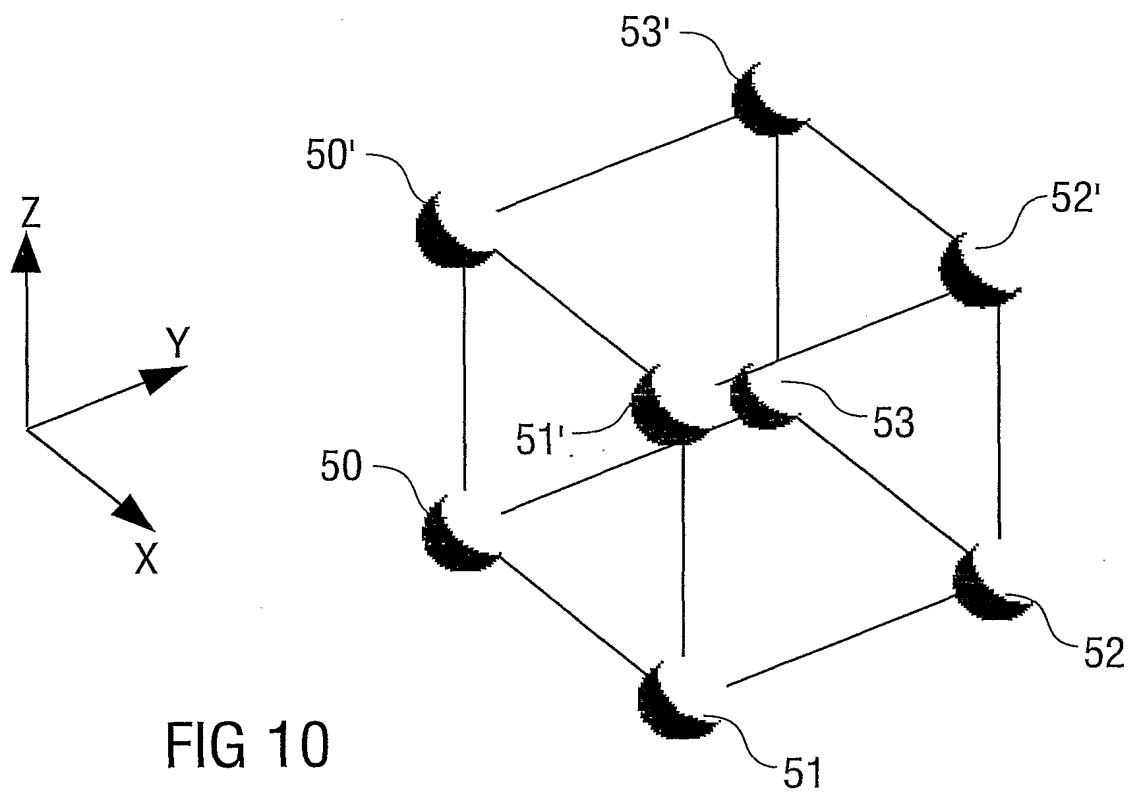


FIG 10

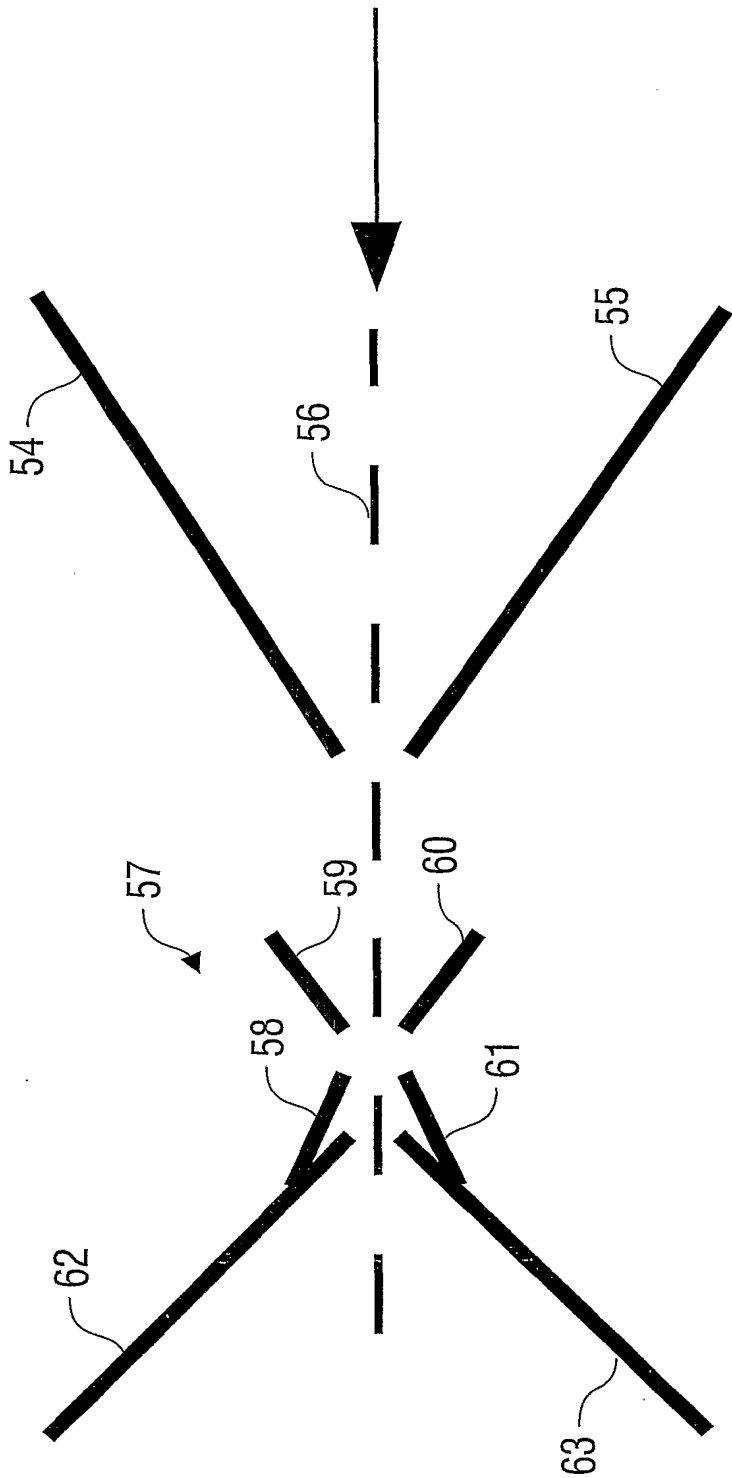


FIG 11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2005/001084

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 G01N15/14 G01N15/12
//B01L3/00, G01N27/44

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G01N B01L C12M

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 199 52 322 A1 (EVOTEC BIOSYSTEMS AG; EVOTEC OAI AG) 17 May 2001 (2001-05-17) column 5, line 29 - column 7, line 25	1-12, 16-24
Y	column 8, line 8 - column 8, line 52 figures 1-4 ----- -/--	13, 15

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 May 2005

Date of mailing of the international search report

02/06/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Koch, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2005/001084

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MUELLER T ET AL: "3-D MICROELECTRODE SYSTEM FOR HANDLING AND CAGING SINGLE CELLS AND PARTICLES" BIOSENSORS & BIOELECTRONICS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, vol. 14, 15 March 1999 (1999-03-15), pages 247-256, XP000912020 ISSN: 0956-5663	1-4, 6-8, 14, 19-22, 24
Y	abstract page 248, column 1, paragraph 2 figure 5 figures 4, 7 page 252, column 2 - page 255, column 2, paragraph 1 figures 6, 7	15
X	----- US 4 578 167 A (SCHONER ET AL) 25 March 1986 (1986-03-25) column 1, paragraph 1 column 1, line 41 - column 2, line 32 column 4, line 34 - column 6, line 34 -----	1-3, 7-10, 12, 20, 22-24
Y	WO 00/37165 A (EVOTEC BIOSYSTEMS AG; FUHR, GUENTER; MUELLER, TORSTEN; SCHNELLE, THOMA) 29 June 2000 (2000-06-29) page 1, paragraph 1 page 7, paragraph 2 page 13, paragraph 5 - page 14, paragraph 1 figure 2 -----	13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2005/001084

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
DE 19952322	A1	17-05-2001	WO	0131315 A1	03-05-2001
			EP	1226419 A1	31-07-2002

US 4578167	A	25-03-1986	NONE		

WO 0037165	A	29-06-2000	DE	19859461 A1	29-06-2000
			AT	234671 T	15-04-2003
			DE	59904670 D1	24-04-2003
			WO	0037165 A1	29-06-2000
			EP	1140343 A1	10-10-2001
			US	6663757 B1	16-12-2003

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 G01N15/14 G01N15/12
//B01L3/00, G01N27/44

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 G01N B01L C12M

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie ^o	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DE 199 52 322 A1 (EVOTEC BIOSYSTEMS AG; EVOTEC OAI AG) 17. Mai 2001 (2001-05-17) Spalte 5, Zeile 29 - Spalte 7, Zeile 25	1-12, 16-24
Y	Spalte 8, Zeile 8 - Spalte 8, Zeile 52 Abbildungen 1-4 ----- -/--	13,15



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

^o Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

^{A*} Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

^{E*} älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

^{L*} Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

^{O*} Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

^{P*} Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

^{T*} Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

^{X*} Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

^{Y*} Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

^{&*} Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

17. Mai 2005

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

02/06/2005

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Koch, A

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	MUELLER T ET AL: "3-D MICROELECTRODE SYSTEM FOR HANDLING AND CAGING SINGLE CELLS AND PARTICLES" BIOSENSORS & BIOELECTRONICS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, Bd. 14, 15. März 1999 (1999-03-15), Seiten 247-256, XP000912020 ISSN: 0956-5663	1-4, 6-8, 14, 19-22, 24
Y	Zusammenfassung Seite 248, Spalte 1, Absatz 2 Abbildung 5 Abbildungen 4, 7 Seite 252, Spalte 2 - Seite 255, Spalte 2, Absatz 1 Abbildungen 6, 7	15
X	US 4 578 167 A (SCHONER ET AL) 25. März 1986 (1986-03-25) Spalte 1, Absatz 1 Spalte 1, Zeile 41 - Spalte 2, Zeile 32 Spalte 4, Zeile 34 - Spalte 6, Zeile 34	1-3, 7-10, 12, 20, 22-24
Y	WO 00/37165 A (EVOTEC BIOSYSTEMS AG; FUHR, GUENTER; MUELLER, TORSTEN; SCHNELLE, THOMA) 29. Juni 2000 (2000-06-29) Seite 1, Absatz 1 Seite 7, Absatz 2 Seite 13, Absatz 5 - Seite 14, Absatz 1 Abbildung 2	13

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/001084

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
DE 19952322	A1	17-05-2001	WO	0131315 A1		03-05-2001
			EP	1226419 A1		31-07-2002

US 4578167	A	25-03-1986	KEINE			

WO 0037165	A	29-06-2000	DE	19859461 A1		29-06-2000
			AT	234671 T		15-04-2003
			DE	59904670 D1		24-04-2003
			WO	0037165 A1		29-06-2000
			EP	1140343 A1		10-10-2001
			US	6663757 B1		16-12-2003
